

R 6103 B

ISSN 0181-1584

# CRYPTOGAMIE

## MYCOLOGIE

TOME 9

Fascicule 2

1988

LABORATOIRE DE CRYPTOLOGAMIE  
MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE  
12, RUE BUFFON, 75005 PARIS



PUBLICATION TRIMESTRIELLE

Juin 1988

Source: MNHN, Paris

## SOMMAIRE

G.L. HARRISON and A. STEWART — Cultural variation in <i>Mycosphaerella fragariae</i> (Tul.) Lindau . . . . .	87
J. SALIBA et A. DAVID — Apports des caractères cultureux et des confrontations dans l'étude des représentants européens du genre <i>Steccherinum</i> (Basidiomycètes, Aphyllophorales) . . . . .	93
V.A. ADISA — Some nutritional requirements of spoilage molds of pineapple fruit . . . . .	111
D. DIROL — Dégénération par des champignons lignivores de la paroi cellulaire de pin traité à des doses sub-létales de produit de préservation chloré . . . . .	117
M.C. JANEX-FAVRE — Étude ontogénique et structurale des périthèces du <i>Dictyotrichiella semiimmersa</i> Candoussau et Sulmont (Pyrenomycètes, Herpotrichiaceae) . . . . .	133
T. HADAR — The host specificity of <i>Urophlyctis leproides</i> (Trab.) Magn. . . . .	153
L. BETTUCCI, S. LUPO and S. SILVA — Control growth of wood-rotting fungi by non-volatile metabolites from <i>Trichoderma</i> spp. and <i>Gliocladium virens</i> . . . . .	157
Analyses bibliographiques . . . . .	167

## CONTENTS

G.L. HARRISON and A. STEWART — Cultural variation in <i>Mycosphaerella fragariae</i> (Tul.) Lindau . . . . .	87
J. SALIBA et A. DAVID — Use of cultural characters and compatibility in the study of european <i>Steccherinum</i> (In French) . . . . .	93
V.A. ADISA — Some nutritional requirements of spoilage molds of pineapple fruit . . . . .	111
D. DIROL — Decaying fungi action on the wood cell-wall pine treated with sub-lethal amounts of a chlorated preservative. (In French) . . . . .	117
M.C. JANEX-FAVRE — Peritheciium development and structure in <i>Dictyotrichiella semiimmersa</i> Candoussau et Sulmont (Pyrenomycetes Herpotrichiaceae) (In French) . . . . .	133
T. HADAR — The host specificity of <i>Urophlyctis leproides</i> (Trab.) Magn. . . . .	153
L. BETTUCCI, S. LUPO and S. SILVA — Control growth of wood-rotting fungi by non-volatile metabolites from <i>Trichoderma</i> spp. and <i>Gliocladium virens</i> . . . . .	157
Bibliography . . . . .	167

26103B

# CRYPTOGAMIE

## MYCOLOGIE

TOME 9      Fascicule 2      1988

Ancienne Revue de Mycologie. Dirigée par Roger HEIM



DIRECTEUR SCIENTIFIQUE : Madame J. NICOT  
SECRÉTAIRE DE RÉDACTION : Mme M.C. BOISSELIER. ÉDITEUR : A.D.A.C.

Publié avec le concours du Muséum National d'Histoire Naturelle

CRYPTOGAMIE, MYCOLOGIE est indexé par : *Biological Abstracts*, *Current Contents*,  
Publications bibliographiques du CDST (Pascal).

Copyright © 1988. Cryptogamie Mycologie

Bibliothèque Centrale Muséum



3 3001 0022778 7  
Source: MNHN, Paris

# CRYPTOZOOLOGIE

## SUMMA

DE LA FAUNE FRANÇAISE, PAR M. DE LAURENT.

PARIS, 1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

1845.

## CULTURAL VARIATION IN *MYCOSPHAERELLA FRAGARIAE* (TUL.) LINDAU.

by G.L. HARRISON and A. STEWART\*

**ABSTRACT.** — A detailed study on the cultural characteristics of 6 isolates of *M. fragariae* (Tul.) Lindau collected in the Auckland region from the strawberry variety Tioga was carried out. All isolates could be distinguished when grown on PDA at 25°C in darkness for 21 days, using the following characteristics : colour of mycelium, texture of mycelium, spore production, growth rate, and pigment exudation both onto the mycelium and into the growth medium.

Cultural variation within isolates was also studied. *M. fragariae* was found to be extremely variable in culture, variation of juvenile colonies from parents in appearance ranging from 0.40 % between replicates. All combinations of mycelial colour (red, grey, pink, white), dye production (profuse, slight, none) and ability to colour the growth medium were observed.

**RÉSUMÉ.** — Les caractéristiques culturelles de 6 isolats de *Mycosphaerella fragariae* (Tul.) Lindau sont étudiées. Ils ont été prélevés sur la variété de fraisier Tioga dans la région d'Auckland. Tous les isolats sont distincts après culture sur PDA pendant 21 jours à 25°C dans l'obscurité, sur la base des caractères suivants : couleur et texture du mycélium, production de spores, croissance, exudations pigmentées en surface et dans le milieu.

La variation des isolats en culture a été étudiée. *M. fragariae* présente un taux de variation très élevé; il est compris entre 0 et 40 % suivant les repiquages, pour les différences entre colonies juvéniles et parentales. Toutes les combinaisons de couleurs (rouge, rose, gris, blanc), de production de pigment (profuse, faible, nulle), et de capacité à colorer le milieu de culture ont été observées.

**KEY WORDS :** Strawberry, *Mycosphaerella fragariae*, *Fragaria*, leaf-spot, cultural variation.

### INTRODUCTION

Strawberry Leaf Spot or Frog Eye disease caused by *Mycosphaerella fragariae* (Tul.) Lindau, is one of the most common fungus diseases affecting strawberries worldwide (PLAKIDAS, 1964; ALEXANDER, 1982). During a study of the pathogenicity of various *M. fragariae* isolates on a range of strawberry varieties, extreme cultural variation was observed both between and within isolates of

\* Dept. of Botany, University of Auckland, Private Bag, Auckland, New Zealand. — Present Address : Dept. of Medicine, University of Auckland, Private Bag, Auckland, New Zealand.

the fungus. The existence of variants of *M. fragariae* distinguishable in culture by macroscopic and microscopic characteristics has been established previously (PALCHEFSKY & ALLISON, 1950; BOLTON, 1958, 1962; NEMEC, 1969). PALCHEFSKY & ALLISON (1950) claimed to have isolated two distinct cultural types of *M. fragariae* from different leaflets of a single leaf. BOLTON (1962) however, recognised forty-nine unique cultural variants of *M. fragariae* and proposed that it was the variety of strawberry from which the isolate was derived that determined the cultural characteristics of that isolate.

This paper describes the isolation of *M. fragariae* from different sources in the Auckland region of New Zealand, and evaluates the cultural characteristics of each of the isolates.

## MATERIALS AND METHODS

### Isolation of *M. fragariae*.

Leaves of the variety Tioga showing mature Leaf Spot symptoms were collected from four strawberry plantations in the north Auckland area. The detached leaves were washed in 3 % sodium hypochlorite for 4 min and subsequently rinsed in sterile distilled water (SDW). Leaf spots were then dissected out and cut in half. The halves were placed vertically onto Potato Dextrose Agar (PDA) and incubated at 25°C in the dark. White tufts of conidiophores could be seen growing from the cut edges of the leaf spots above the agar after 2 days. Conidia were picked off under a dissecting microscope using a sterile needle, placed onto fresh PDA plates and incubated at 25°C in darkness. In this way four isolates were obtained and were designated 101, 102, 103 and 104 respectively. Isolate 103 which often failed to grow on PDA, was maintained on a stock culture of autoclaved Tioga leaves which were placed on the top of a thin layer of PDA in petri dishes, while the remaining isolates were maintained on PDA, at 25°C in darkness.

The two isolates designated 8028 and 6M were supplied by Dr W. Hartill, Plant Diseases Division, DSIR, Auckland.

### Growth of *M. fragariae* colonies.

Single colonies for observation and comparison were obtained either by subculturing 2 mm diameter mycelial discs, or by plating out single spores which had been germinated in a solidified 1 % glucose/1.8 % agar mix containing the spore suspension. Single spores were picked out from these plates after 4 days with the aid of a dissecting microscope (BOLTON, 1962). All observations were made on 21 day old colonies grown on PDA in darkness at 25°C.

### Cultural characteristics.

Observations on colour of mycelium, surface texture, and pigment exudation onto the surface of the mycelium were made for colonies grown from mycelial discs.



The exudation of pigment into the agar medium was measured for colonies grown from single spores using the following method. Four 1 cm diameter discs of agar were cut from around the growing edge of 5 replicate colonies per isolate. Each disc was placed in a test tube containing 3 ml of SDW and left overnight at 3°C to allow the pigment to diffuse from the agar. The solution was filtered and absorbance recorded using a Perkin spectrophotometer at 480 nm and 360 nm against appropriate controls.

Colony growth was assessed for each isolate by measuring the diameter of 12 replicate colonies.

Conidial production was determined by detaching the colonies from the agar surface using forceps and placing each in a test tube containing 2 ml of SDW. The tubes were agitated on a vortex mixer until a consistent spore count was recorded using a haemocytometer.

Variation of juvenile colonies from the parent was assessed by comparing the colour, texture, and level of pigment production of a number of single spore colonies with that of the parent colony.

Variation in colony characteristics was also observed over a period of 18 months. Variants obtained were subcultured and held in a stock collection for comparison with parent colonies.

## RESULTS

Individual isolates were able to be distinguished on the basis of the characteristics shown in Table 1. Isolate 6M was unique in both mycelial colour and texture (Fig. 1A), no other isolate having such a pale colour and matted appearance. Isolate 101 was also easily distinguished by the formation of large pigment droplets on the mycelial (Fig. 1B). Isolate 8028 was unique in its formation of a darker band around the edge of the colony (Fig. 1C), while isolates 102, 103, and 104 were all similar in appearance (Fig. 1D).

Isolates 8028 and 6M both had high growth rates but were poor sporulators. Greatest sporulation was observed for isolate 103, although problems were encountered in culturing this isolate on PDA.

The ability to colour the medium varied considerably between isolates, with greatest pigment exudation by isolates 101 and 102.

Attempts to quantify the degree of variation in visual characteristics of juvenile colonies from their parents met with little success. The percentage of colonies differing from parent colonies ranged from 0.40 % between replicates carried out over time. It was possible, however, to distinguish some isolates by the sectors they commonly produced (a sector being a spontaneous change in either the colour or texture of the mycelium). Isolate 101 produced white sectors almost exclusively while isolate 8028 produced sectors with a matted texture which were pale in colour.

The rate at which variant sectors appeared also varied over time. Isolate 8028 produced four variants within the first six months of observation. It then remai-

Characteristics	8028	6M	Isolate 101	102	103	104
Colour of mycelium	pink with red border	pale pink	red with grey border	red with grey border	grey till 0.5mm then red	red with grey border
Texture of mycelium	felt <sup>†</sup>	matted <sup>††</sup>	felt	felt	felt	felt
Pigmented droplets (no. and diameter in mm)	few <=1	none	many 2-3	few <=1	few 2-4	few <=1
Colony diameter (mm)	10.3 (1.4)	7.6 (1.2)	6.8 (0.6)	7.6 (1.2)	7.6 (1.0)	6.8 (1.4)
Conidia production (x10 <sup>-5</sup> )	1.20 (0.14)	1.20 (0.19)	1.20 (0.43)	2.00 (0.16)	5.00 (0.70)	2.33 (0.22)
Pigment Exudation (A480nm - 360nm)	0.70 (0.01)	1.05 (0.32)	1.77 (0.49)	1.73 (0.56)	ltt	0.65 (0.22)
Common sectors observed	matted	deep red or matted	white	none	matted fur or white felt	none

† A long stranded mycelial colony with the aerial mycelium matted together like wet fur.

†† Mycelium short and dense (felt-like).

ltt Colonies failed to grow on PDA.

Table 1 - Characteristics of *M. fragariae* isolates grown on PDA at 25°C in darkness for 21 days. Numerical values shown are means (with SD).

Tableau 1 - Caractères des isolats de *M. fragariae* après culture pendant 21 jours sur PDA à 25°C dans l'obscurité.

ned stable for four months before all remaining colonies of the parent type changed to a pale pink colour. Isolate 6M in contrast, remained stable for six months and then produced three variants in the space of three weeks. From the six isolates held in culture over 18 months, variants exhibiting almost all combinations of mycelium colour (red, white, grey, pink), pigment production (profuse, slight, none), and ability to colour the growth medium were observed. Variants obtained included a white nonsporulating colony with no aerial mycelium derived from 6M, and a variant identical in appearance to 6M but having an extremely fast growth rate.

Variants differed in stability also, some remaining stable in culture for many months, while others quickly reverted to their parent form or to yet another variation. The stability of any particular variant was unrelated to its cultural characteristics.

## DISCUSSION

All six isolates of *M. fragariae* studied could be distinguished using the seven cultural characteristics tested i.e. colour and texture of the mycelium, spore production, growth rate, pigment exudation (both onto the mycelium and into



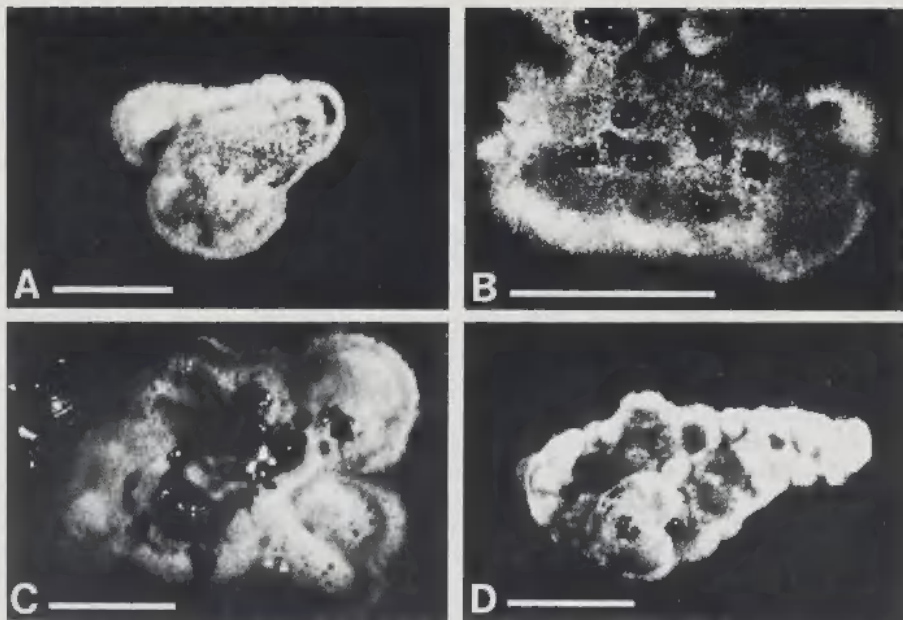


Figure 1 — Three week old colonies of *Mycosphaerella fragariae* grown on PDA at 25°C in darkness. Isolates (A) 6M, (B) 101, (C) 8028, (D) 103. Scale bar : 1 cm.

Figure 1 — Colonies de 3 semaines de *Mycosphaerella fragariae* cultivées sur PDA à 25°C dans l'obscurité. Isolats (A) 6M, (B) 101, (C) 8028, (D) 103. Échelle : 1 cm.

the medium), and sectors produced. Many of the variations seen in these characteristics are similar to those previously reported in the literature for *M. fragariae* (PALCHEFSKY & ALLISON, 1950; BOLTON, 1958), indicating that the diversity of this fungus in New Zealand is as extensive as that seen elsewhere. Spontaneous changes in macroscopic characteristics also occurred readily in culture, some isolates exhibiting a greater frequency of change than others. Variation usually occurred by sector production and occasionally by whole colony changes soon after subculturing.

Such extreme variation in culture is not limited to *M. fragariae*. *Mycosphaerella nubilosa* (Cooke) Hansf. (GANAPATHI, 1979), *Botrytis cinerea* Pers. ex Fr. (JARVIS, 1977), and *Penicillium* species (BRIDGE & al., 1986) have also been noted for the heteromorphic nature of their colonies. The mechanism for such changes in *M. fragariae* has not been determined, though in *Penicillium* it has been suggested to be parasexual recombination (BURNETT, 1976).

The variation shown in the cultural characteristics both between and within isolates of *M. fragariae* raises several points. Firstly, it brings into doubt claims that the isolate type is determined by the variety of strawberry from which it is obtained (BOLTON, 1962), as all six of the isolates used in this study were

from the variety Tioga. In contrast however, it has also been shown that variation in cultural type can be introduced early in the subculturing process, perhaps explaining the isolation of two distinct cultural types from one leaf by PALCHEFSKY & ALLISON (1950). Secondly, it has previously been shown that variations within isolates can have an effect on morphological and physiological characteristics, and on secondary metabolite production (SANSOME, 1949; SCHAREN & KRUPINSKY, 1970). It is possible that variation in culture is therefore occurring with those characteristics that affect survivorship and adaptability in the field such as growth and sporulation rates. Though BOLTON (1962) showed that the cultural characteristics of *M. fragariae* isolates did not correlate with pathogenicity when using freshly obtained isolates, the question of the reliability of pathogenicity tests using isolates held in culture for some time remains. Under conditions of repeated culture and preservation many changes may occur in the characteristics of an isolate. It may therefore differ significantly from the isolate taken from the field by the time pathogenicity trials or other observations are carried out.

Finally, the question of how isolate variation occurring in the field affects disease development is raised. Is it this particular characteristic of *M. fragariae* which has allowed it to remain a serious pathogen on a wide range of strawberry cultivars worldwide, despite the constant development of new varieties of strawberry and new fungicides for its control? If so, then this particular characteristic of *M. fragariae* warrants further investigation if a successful disease management strategy is to be maintained.

#### REFERENCES

- ALEXANDER G.P., 1982 — The Strawberry - An indepth review of research up to 1980-81. *Whangarei, New Zealand, Ministry of Agriculture and Fisheries*, 112 p.
- BOLTON A.T., 1958 — Cultural variation in *Mycosphaerella fragariae*. *Canad. J. Bot.* 36 : 935-940.
- BOLTON A.T., 1962 — Pathogenic variation in *Mycosphaerella fragariae*. *Canad. J. Bot.* 40 : 647-650.
- BRIDGE P.D., HAWKSWORTH D.L., KOZAKIEWICZ Z., ONIONS A.H.S. and PATERSON R.R.M., 1986 — Morphological and biochemical variation in single isolates of *Penicillium*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 87 : 389-396.
- BURNETT J.H., 1976 — *Fundamentals of mycology*. London, Edward Arnold, 544 p.
- GANAPATHI A., 1979 — Studies on the etiology of the leaf blotch disease of *Eucalyptus* Spp. caused by *Mycosphaerella nubilosa* (Cke.) Hansf. PhD Thesis, Auckland University, New Zealand.
- JARVIS W.R., 1977 — Botryotinia and Botrytis species : taxonomy, physiology and pathogenicity. *Research Branch, Canada Department, Ottawa*. Monograph n° 15, 195 p.
- NEMEC S., 1969 — Determination of leaf spot races in southern Illinois strawberry plantings. *Pl. Dis. Reporter* 53 : 94-97.
- PALCHEFSKY J. and ALLISON C.C., 1950 — Variations in pigment formation and other cultural characteristics of monoconidial isolates of *Mycosphaerella fragariae*. *Phytopathology* 40 : 22.
- PLAKIDAS A.G., 1964 — *Strawberry diseases*. Biological Series No 6. Baton Rouge, USA, Louisiana State University Press, 632 p.
- SANSOME E.R., 1949 — Spontaneous mutation in standard and Gigas forms of *Penicillium notatum* Strain 1249 B21. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 32 : 305-314.
- SCHAREN A.L. and KRUPINSKY J.M., 1970 — Cultural and inoculation studies of *Septoria nodorum*, cause of glume blotch of wheat. *Phytopathology* 60 : 1480-1485.

## APPORTS DES CARACTÈRES CULTURAUX ET DES CONFRONTATIONS DANS L'ÉTUDE DES REPRÉSENTANTS EUROPÉENS DU GENRE *STECCHERINUM* (BASIDIOMYCÈTES, APHYLLOPHORALES)

par J. SALIBA et A. DAVID\*

**RÉSUMÉ.** — L'emploi des tests d'intercompatibilité a permis de montrer que *Steccherinum ochraceum* (Pers.:Fr.) S.F. Gray est formé de trois espèces biologiques interincompatibles. Le nom de *Steccherinum bourdotii* est proposé pour *Steccherinum dichroum* Pers. sensu Bourdot et Galzin non *Steccherinum dichroum* Pers., lui aussi incompatible avec *Steccherinum rhois* (Schw.) Banker et *Steccherinum robustius* (J. Erikss. et Lund.) J. Erikss., deux bonnes espèces isolées génétiquement.

**ABSTRACT** — Three new species are described, among them two sibling species of *Steccherinum ochraceum* (Pers.:Fr.) S.F. Gray and the third one, *Steccherinum bourdotii* nov. sp. similar to *Steccherinum dichroum* Pers. sensu Bourdot et Galzin non *Steccherinum dichroum* Pers. The use of intercompatibility tests has shown that *Steccherinum rhois* (Schw.) Banker, *Steccherinum bourdotii* nov. sp. and *Steccherinum robustius* (J. Erikss. et Lund.) J. Erikss. are three good species different of the ultraspecies *Steccherinum ochraceum*.

**MOTS CLÉS :** Aphyllorphorales, *Steccherinum*, systématique, cultures, intercompatibilité.

Le genre *Steccherinum* fut créé en 1821 par S.F. GRAY pour une espèce hydnoïde, *Hydnum ochraceum* Pers. Il renferme aujourd'hui de nombreuses espèces présentant toutes en commun les caractères suivants : hyménium odontoïde, blanc-crème, rosâtre ou ocracé à brun roux, système dimitique, hyphes génératrices avec ou sans boucles, présence de pseudocystides ou de métuloïdes bien différenciés, spores ellipsoïdes à subglobuleuses aux parois minces, lisses, ne réagissant ni avec IKI ni avec le bleu coton.

Si l'appartenance au genre est dans l'ensemble assez facile à préciser, les espèces sont par contre beaucoup plus délicates à définir et le nombre reconnu varie selon les auteurs. L'étude des types, les comparaisons morphologiques ont déjà fait l'objet de travaux importants qui nous ont servi de base (BANKER,

\* Laboratoire de mycologie, Université Lyon 1, 43, Bd du 11 Novembre 1918, F-69622 Villeurbanne, France.

1912; NIKOLAJEVA, 1961; et surtout MAAS GEESTERANUS, 1974). Devant les conclusions souvent imprécises en ce qui concerne la distinction des espèces, nous avons pensé apporter des éclaircissements en étudiant non seulement la morphologie des carpophores mais aussi l'aspect des mycéliums en culture et surtout en faisant appel aux tests d'intercompatibilité. Nous avons plus particulièrement travaillé sur les *Steccherinum ochraceum*, *St. dichroum* sensu Bourdot et Galzin et *St. rhois*, espèces pour lesquelles les opinions des mycologues varient considérablement. MAAS GEESTERANUS (1974) les synonymise, ERIKSSON & al. (1984) ne mentionnent ni *St. dichroum*, ni *St. rhois*. D'autres enfin considèrent deux ou trois espèces distinctes : BOURDOT & GALZIN (1928) reconnaissent *St. ochraceum* et *St. dichroum* alors que PÄRMASSTO (1968), dans une liste de *Steccherinum* trouvés en U.R.S.S., énumère comme espèces indépendantes *St. dichroum*, *St. ochraceum* et *St. rhois*. Dans l'ouvrage récent d'ERIKSSON & al. (1984) la clé établie pour le genre *Steccherinum* renferme six espèces : *St. cremeoalbum* Hjortst., *St. fimbriatum* (Pers.: Fr.) J. Erikss., *St. litschaueri* (Bourd. et Galz.) J. Erikss., *St. ochraceum* (Pers.: Fr.) S.F. Gray, *St. robustius* (J. Erikss. et Lund.) J. Erikss., *St. subcrinale* (Peck.) Ryv. auxquels s'ajoute *St. oreophilum* Linds. et Gilb. non inclus dans cette clé mais cependant mentionné dans le texte. Pour réaliser notre projet, nous devons disposer de récoltes fraîches, permettant l'obtention de sporées ou de boutures. Toutes les espèces énumérées ci-après ont été récoltées par nous, ou nous ont été envoyées fraîches, à l'exception de *St. cremeoalbum* et *St. litschaueri* qui ne seront donc pas traitées ici. faute de matériel, de même que *St. oreophilum* qui a déjà fait l'objet d'un article récent (DAVID & BOIDIN, 1984).

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les cultures mycéliennes et leur description ont été réalisées selon NOBLES (1948) et BOIDIN (1958). Le code utilisé est celui établi par NOBLES (1965) et complété par BOIDIN (1966), BOIDIN & LANQUETIN (1984).

Toutes les confrontations ont été faites avec au moins 2 monospermes de chaque récolte, indiqués par des chiffres arabes, 1, 2, 3... et toutes les fois que cela a été possible avec un représentant de chaque pôle, indiqué par un chiffre romain I, II, III ou IV. Nous possédons les mycéliums monospermes et (ou) polyspermes de toutes les récoltes citées; dans le cas contraire les références des exsiccata seront suivies d'un astérisque.

Les abréviations figurant après les numéros des récoltes correspondent aux références des herbiers.

AD : Alix David (France), DAOM : Ginns (Canada), GB : Nillis Hallenberg (Suède), HGB : Holga Grosse-Brauckmann (BDR), PL : Paule Lanquetin (France), R : Ritter (DDR), MT : Milica Tortic (Yougoslavie).

Les cartes de France (Fig. 1-2) permettent de voir la répartition géographique des différentes espèces de *Steccherinum* dans ce pays. Enfin pour permettre l'identification des différentes espèces européennes, leurs principaux caractères sont rassemblés dans une clé.

**STECCHERINUM OCHRACEUM (PERS.: FR.) S.F. GRAY***Nat. Arr. Brit. Pl.*, 1 : 651 (1821)

**Basionyme** : *Hydnum ochraceum* Pers.: Fr., *Syst. Mycol.* 1 : 414 (1821).

*Steccherinum ochraceum* est une espèce très commune en Europe, croissant généralement sur feuillus, beaucoup plus rarement sur conifères. Elle est très bien décrite dans la plupart des ouvrages de mycologie.

Les nombreuses confrontations effectuées entre monospermes de récoltes différentes ont conduit à distinguer trois ensembles absolument interstériles, ne se distinguant ni par leur morphologie, ni par leur structure microscopique, ni par leur support et correspondant donc à trois espèces jumelles a, b, c.

L'espèce «a» de répartition européenne, fréquente dans la moitié nord de la France, notamment dans la région parisienne, beaucoup plus rare dans la moitié sud, correspond sans doute à *Steccherinum ochraceum* dont le lectotype choisi est de la région parisienne.

**Récoltes de *Steccherinum ochraceum*.**

- 207-PL : La Tour de Salvigny, Rhône, 11.12.48 (Boidin).
- 4578-PL : Rhône, sur feuillu, 23.11.63 (Société Linnéenne de Lyon).
- 5819-PL : Poleymieux, Rhône, sur *Alnus glutinosa*, 09.04.67 (Besson).
- 3660-AD : St. Bernard, Ain, 01.04.79 (Boidin).
- 3716-AD : Forêt de la Ferté, Saône-et-Loire, 20.08.79 (David).
- 3734-AD : Verdun-sur-le-Doubs, Saône-et-Loire, sur *Carpinus*, 25.08.79 (David).
- 4274-AD : Bois de Lesches près d'Esblly, Seine-et-Marne, sur *Betula*, 10.11.81 (Duverger).
- 4379-AD : Savigneux, Ain, sur *Carpinus*, 20.08.82 (Boidin).
- 4380-AD : Savigneux, Ain, sur *Carpinus*, 20.08.82 (Boidin).
- 4391-AD : Forêt de Zollishlag, Lucerne, Suisse, sur *Quercus*, 16.11.82 (Breitenbach).
- 4393-AD : Forêt de Château Renault, Indre-et-Loire, sur *Carpinus*, 20.11.82 (Lafont).
- 4402-AD : Forêt de Mixte, Pyrénées-Atlantiques, sur *Fagus*, 09.01.83 (Gilles).
- 4407-AD : Forêt de St. Germain, Yvelines, *Fagus*, 29.01.83 (Duverger).
- 4409-AD : Forêt de Coye, Oise, *Carpinus*, 05.02.82 (Duverger).
- 4411-AD : Parc National de St.-Amand, Raismes, Nord, sur feuillu, 17.10.82 (Courtecuisse).
- 4412-AD : La Mare aux cannes. Forêt de St-Germain, Yvelines, sur *Quercus*, 19.02.83 (Duverger).
- 4413-AD : Castetpugon, Pyrénées-Atlantiques, sur *Carpinus betula*, 20.02.83 (Vivant).
- 4417-AD : Région de Montagny, Rhône, sur tronc mort au sol dans forêt mêlée de *Quercus*, *Carpinus*, *Fraxinus*, 23.03.83 (David).
- 4420-AD : Forêt de Fontainebleau, Seine, sur *Quercus*, 20.03.83 (Duverger).
- 4421-AD : Belley, Ain, sur *Castanea vulgaris*, 10.04.83 (Dequatre).
- 4457-AD : Le Lion d'Angers, Maine-et-Loire, sur *Acer*, 10.06.84 (David).





Figure 1 : Répartition de *Steccherinum ultraspecies ochraceum*.

■ : *St. ochraceum*, ○ : *St. meridiochraceum*, ▽ : *St. pseudochraceum*.

- 4459-AD : Le Lion d'Angers, Maine-et-Loire, sur *Acer*, 10.06.84 (David).
- 4476-AD : Maine-et-Loire, sur *Corylus*, 01.10.83 (Normand).
- 4477-AD : Le Lion d'Angers, Maine-et-Loire, sur *Quercus*, 08.10.83 (Normand).
- 4479-AD : Maine-et Loire, sur *Laurus*, 08.10.83 (Normand).
- 4480-AD : Maine-et-Loire, *Aesculus hippocastanum*, 08.10.83 (Normand).
- 4495-AD : Forêt de la Valbonne, Gard, sur *Quercus*, 22.08.83 (Cannac).
- 4525-AD : Argelès sur-mer, Pyrénées-orientales, sur *Quercus pubescens*, 21.01.84 (Lafuente).
- 4581-AD : environs de Bagnières de Bigorre, Pyrénées-atlantiques, sur *Fagus*, 17.10.84 (Baute).
- 19-83-MT : District d'Opatija, près de Rijeka, Yougoslavie, sur *Quercus*, 19.02.83 (Tortic).

– 2100-HGB : Pfungstadter, BDR, sur *Alnus glutinosa*, 11.02.84 (Grosse Brauckmann).

L'espèce «b» serait plus thermophile que la précédente et semble la remplacer dans le Midi de la France, plus particulièrement dans le Sud-Est, à partir de Valence ainsi qu'en Bretagne. Son aire de répartition se superpose très bien aux zones climatiques dans lesquelles le nombre moyen annuel de jours de gelée est inférieur à cinquante. Elle se retrouve en Yougoslavie, en Sardaigne et ce qui peut paraître plus surprenant, nous avons reçu une récolte du Danemark. Elle sera nommée *Steccherinum meridiochraceum* nov. sp.

*Species eadem est ac Steccherinum ochraceum sed thermophila et hac intersterilis.*

Holotypus : sur *Quercus ilex* (branche au sol), Amourdedieu, St Peray, Ardèche, leg. J. Boidin, 25-09-83, n° LY-AD 4463.

#### Récoltes de *Steccherinum meridiochraceum*.

- 4670-PL : Grignan, Drôme, sur *Quercus ilex*, 19.03.64 (Boidin).
- 4686-PL : Six-Fours, Var, sur *Quercus ilex*, 01.04.64 (Boidin).
- 7137-PL : Fréjus, Var, sur branchette au sol, 19.04.73 (Boidin).
- 3677-AD : Près d'Uzès, Gard, sur *Quercus*, 26.05.79 (David).
- 3875-AD : Petit Lubéron, Vaucluse, sur *Pinus*, 18.12.79 (David).
- 3877-AD : Massif des Cèdres, Ventoux, Drôme, sur *Cedrus*, 19.12.79 (David).
- 4382-AD : Grasse, Alpes-Maritimes, sur feuillu, 05.12.82 (David).
- 4463-AD : Amourdedieu, vers St. Peray, Ardèche, sur *Quercus ilex*, 25.09.83 (Boidin).
- 4475-AD : La Richardais, Ille-et-Vilaine, sur *Sarothamnus*, 07.01.83 (Cannac).
- 4487-AD : Mont Ventoux, Drôme, sur *Cedrus*, 14.10.83 (David).
- 4493-AD : La Richardais, Ille-et-Vilaine, 27.07.83 (Cannac).
- 4576-AD : Tourtousse, Ardèche, sur *Quercus ilex*, 14.10.84 (Boidin).
- 4583-AD : Lieu-dit Le Boin, commune de St Eloy-les-Tuileries, Corrèze, sur *Sambucus nigra*, 08.08.84 (Bordes).
- 4644-AD : Forêt de Burgos, Sardaigne, sur *Quercus*, 11.85 (David).
- 79-82-MT : Plitvice, Yougoslavie, sur *Fagus*, 22.07.82 (Tortic).
- 95-82-MT : Plitvice, Yougoslavie, sur *Fagus*, 24.10.82 (Tortic).
- 148-82-MT : Forêt vierge de Krokav, Yougoslavie, sur *Fagus*, 26.08.82 (Tortic).
- 897-GB : Jylland, Djursland, Danemark, sur *Fagus*, 12.09.83 (Hallenberg).

L'espèce «c» est beaucoup plus rare que les deux précédentes et est répartie de ci de là, un peu partout en Europe. Elle sera nommée *Steccherinum pseudochraceum* nov. sp.

*Species eadem est ac Steccherinum ochraceum sed hac intersterilis.*

Holotypus : sur *Eleagnus pungens*, Sauveterre de Béarn, Pyrénées-Atlantiques, leg. G. Gilles, 23-01-1983, n° LY-AD 4405.



<i>St. meridiochraceum</i> 3677 AD (I et III)		<i>St. pseudochraceum</i> 4405 AD (I et II)	
3875 AD	+	4398 AD	+
4686 PL	+	4408 AD	+
4382 AD	+	4442 AD	+
4463 AD	+	4523 AD	+
79-82 T	+	4571 AD	+
95-82 T	+	1047 GB	+
148-82 T	+	2099 GB	+
4475 AD	+		
4487 AD	+		

Résultats de confrontations entre différentes récoltes de *Steccherinum meridiochraceum* (tableau de gauche) et *Steccherinum pseudochraceum* (tableau de droite). (F : fructifications).

L'étude du mycélium en culture de *St. ochraceum* a déjà été entreprise par BOIDIN (1958). Elle reste valable pour les deux autres espèces jumelles dont le mycélium présente les mêmes caractéristiques. Cependant *St. meridiochraceum* se reconnaît à la présence d'hyphes irrégulières, ramifiées, souvent moniliformes, de nombreuses vésicules sphériques terminales, de 6 à 10  $\mu\text{m}$  de diamètre, à parois minces ou irrégulièrement épaissies et dans ce cas congophiles, de nombreuses hyphes gainées de cristaux (observations sur les cultures mycéliennes des *St. meridiochraceum* n° 3677 AD et 95-82 PL) et d'hyphes génératrices pouvant avoir des parois très épaissies.

La polarité et le comportement nucléaire ont été recherchés. *Steccherinum ochraceum*, *St. meridiochraceum* et *St. pseudochraceum* sont tétrapolaires et ont un comportement nucléaire normal.

### STECCHERINUM BOURDOTII NOV. SP.

**Synonyme :** *Mycoleptodon dichroum* (Pers.) sensu Bourdot et Galzin, *Hyménomyc. France*: 440 (1928); illustration récente in GROSSE-BRAUCKMANN (1986, p. 368).

*Hydnum dichroum* fut décrit par PERSOON en 1825 à partir de matériel français envoyé par DELASTRE sous le nom d'*Hydnum rubiginosum*. Trois ans plus tard FRIES (1828) nomme *Hydnum pudorinum* une espèce envoyée également de France par DELASTRE. Pour MAAS GEESTERANUS (1974), il ne fait aucun doute que ces espèces sont identiques et qu'elles correspondent à *Steccherinum ochraceum* dont elles possèdent le même type de spores ellipsoïdes. Par contre en 1928, BOURDOT & GALZIN décrivent sous le nom de *Mycoleptodon dichroum* Pers. une espèce à «spores obovales élargies 4-6,5 x 3,5-4  $\mu\text{m}$ », forme et taille contestées par MAAS GEESTERANUS (1974) qui pense que ces spores pourraient bien être des levures ou appartenir à des champignons parasites. Malheureusement, il n'existe plus à Paris, dans l'herbier de BOURDOT, d'exsiccata de *Mycoleptodon dichroum*. Par contre nous avons fait de nombreuses récoltes de *Steccherinum* à spores nettement subglobuleuses, très

différentes de celles de *Steccherinum ochraceum*. Malgré les excellentes observations de MAAS GEESTERANUS (1974) et de BANKER (1912), nous avons voulu observer à nouveau les exsiccata de PERSOON (L.) et de FRIES (UPS).

— *Hydnum dichroum* Pers. (Herbier L.) : cet exsiccata est accompagné d'une étiquette portant les annotations suivantes écrites à la plume, de la main de Delastre «*Hydnum rubiginosum* Dre/ Herbier de Vienne/ sur tronc carié de chêne, dans les fûtaies». Trois spécimens sont collés sur une feuille de papier; deux sont résupinés, le troisième formé de petits basidiomes flabelliformes, rétrécis en arrière, au point d'attache. MAAS GEESTERANUS en a donné une description précise (1974, p. 531) mentionnant notamment des spores largement ellipsoïdes de  $3,6-3,8 \times 2-2,4 \mu\text{m}$ , spores que nous avons observées.

— *Hydnum pudorinum* Fr. (Herbier UPS.) : trois basidiomes collés sur une feuille de papier, tous résupinés. Une étiquette porte les annotations suivantes : «*Hydnum rubiginosum* Dre. 1823 - *dichroum* Pers. Mycol. Eur. sect. 2a add Page 213». Au dessus de cette étiquette sont écrits au crayon et d'une autre écriture, les mots suivants «*Hydnum pudorinum*».

Nous avons observé ces basidiomes et y avons trouvé des spores ellipsoïdes, identiques à celles de *Steccherinum ochraceum*. Notre conclusion est identique à celle des auteurs précédemment cités. *St. dichroum* Pers. et *St. pudorinum* Fries correspondent bien à *St. ochraceum*. L'espèce à spores subglobuleuses devait donc être dénommée. En fait les confrontations réalisées entre mycéliums monospermes de toutes nos récoltes (24) permettent de distinguer deux groupes totalement interstériles correspondant donc à deux espèces biologiques distinctes; les différences morphologiques entre ces espèces sont minimes.

**Premier groupe** (21 récoltes) : spécimens souvent étalés-réfléchis, dimidiés, conchoïdes, contexte duplex, spores subglobuleuses. Cette espèce correspond parfaitement au *Steccherinum dichroum* sensu Bourdot et Galzin. Nous la nommerons *Steccherinum bourdotii* nov. sp.

### Description des carpophores de *Steccherinum bourdotii*.

*Fructificatio annua, effuso-reflexa vel sessilis. Pilei saepe conchoidei. Superficies superia alba ad cremeam vel griseam, hirsuta vel strigosa, zonata; superficies inferia hydnacea aculei salmoneo-cremea ad incarnato-cremeam.*

*Species Steccherinum ochraceo affinis, sed differt sporis subglobosis.*

**Holotypus** : sur base d'*Ulmus* mort debout, aérodrome, Anse, Villefranche, Rhône, leg. A. David et J. Boidin, 29-08-1979, n° LY-AD 3747.

Carpophores facilement détachables, résupinés, étalé-réfléchis ou souvent à petits chapeaux conchoïdes de 1-1,5 cm de largeur, largement attachés au support ou au contraire rétrécis en un pseudostipe, séparés ou concrescents. Face stérile des chapeaux blanchâtre, tomenteuse, hirsute, à stries concentriques et à marge régulière ou festonnée. Aiguillons nombreux, grêles, assez longs (2 à 2,5 mm), plus petits vers la marge, subulés, parfois bifides, hirsutes sur toute leur longueur, crème aurore à crème incarnat, contexte de 3 à 5 mm d'épais-



seur souvent bicolore avec une zone inférieure concolore aux aiguillons et une face supérieure légèrement plus claire ou plus foncée mais de texture souvent plus lâche, pseudocystides nombreuses à paroi épaissie, jusqu'à 3  $\mu\text{m}$ , entourées à leur extrémité d'un manchon de cristaux de 45-100  $\mu\text{m}$  de longueur, réparties sur toute la longueur des aiguillons ainsi qu'entre eux, plus ou moins émergentes et visibles à la loupe.

Système hyphal dimitique : hyphes génératrices peu nombreuses, 2-3  $\mu\text{m}$  de diamètre, régulièrement bouclées. hyphes squelettiques très nombreuses, x 4-5  $\mu\text{m}$  de diamètre, peu ramifiées. Ces hyphes entremêlées et sans orientation précise dans le contexte sont parallèles entre elles dans la trame des aiguillons.

Basides subclaviformes, 12-15 x 4-5  $\mu\text{m}$ , à quatre stérigmates; spores subglobuleuses, (3)3,5-4,5(5) x 4,5-5,5(6)  $\mu\text{m}$ .

Habitat : sur feuillus, *Robinia pseudacacia*, *Alnus*, *Carpinus*, *Quercus*, *Ulmus*, une récolte seulement sur conifère, *Pinus*.

#### Récoltes de *Steccherinum boudotii*.

- 4954-PL : Croix de Signy, Rhône, sur *Pinus*, 12.10.64 (David).
- 6562-PL : Bourg Argental, Loire, sur *Alnus*, 11.70 (Delaigue).
- 10257-PL : Belley, Ain, 01.11.83 (Abbé Bozonnet).
- 3747-AD : Anse, Rhône, sur *Ulmus* mort, 29.08.79 (Boidin et David).
- 4156-AD : Forêt de Krakovo, près de Kostanjevica à 60 km de Zagreb, Yougoslavie, sur *Carpinus*, 04.10.81 (David et Tortic).
- 4267-AD : Belley, Ain, sur feuillu, 10.81 (Abbé Bozonnet).
- 4268-AD : Belley, Ain, sur feuillu, 10.81 (Abbé Bozonnet).
- 4269-AD : Belley, Ain, sur feuillu, 10.81 (Abbé Bozonnet).
- 4272-AD : Francheville le Bas, Rhône, sur piquet de *Robinia pseudacacia*, 10.01.82 (Dequatre).
- 4400-AD : St Bernard, Ain, sur *Robinia pseudacacia*, 12.12.82 (Boidin).
- 4401-AD : Mions, Rhône, sur *Carpinus*, 12.12.82 (Moiroud).
- 4404-AD : Sauveterre de Béarn, Pyrénées-Atlantiques, sur *Acer campestre*, 23.01.83 (Gilles).
- 4432-AD : San Miguel de Tucuman, Argentine, 09.06.83 (Rajchenberg).
- 4494-AD : Forêt de Valbonne, Gard, sur *Quercus*, 23.08.83 (Cannac).
- 4572-AD : près de Brisighella, Appennine Tosco Romagnolo, Italie, sur feuillu (Noyer ?), 02.10.84 (Govi).
- 4579-AD : Benfeld, Bas-Rhin, sur *Carpinus*, 15.10.84 (Marti).
- 531-R : Dessau, DDR, sur *Quercus*, 30.01.82 (Miller et Ritter).
- 1029-GB : Bristrita, Nasaud, Roumanie, 10.12.83 (Hallenberg).
- 2096-HGB : Hessen, Oberrheinebene Pfunstadter Moor, BDR, sur *Alnus glutinosa*, 11.02.84 (Grosse Braukmann).
- 2097-HGB : Hessen, Oberrheinebene Pfunstadter Moor, BDR, sur *Alnus glutinosa*, 11.02.84 (Grosse Braukmann).
- 2098-HGB : Hessen, Oberrheinebene Pfunstadter Moor, BDR, sur *Alnus glutinosa*, 11.02.84 (Grosse Braukmann).

### Étude du mycélium en culture.

Les observations ci-dessous sont résumées dans le travail de BOIDIN & LANQUETIN (1984, p. 203) sous le nom de *Steccherinum dichroum*, observations faites sur les récoltes 4954-PL, 6562-PL, 10257-PL et 4156-AD (*Steccherinum bourdotii*).

— Spores et germinations : les spores uninucléées germent en 4-7 jours et donnent naissance à des articles uninucléés.

— Sexualité : recherchée sur la récolte 4156-AD, l'espèce est tétrapolaire :

$A_1 A_2$	1-6	$A_2 B_2$	8-9
$A_1 B_2$	2-5-7	$A_2 B_1$	3-4-10

— Polysperme :

- croissance moyenne à lente (boîte de 9 cm de diamètre remplie en un laps de temps variant de 4 à 6 semaines).

- aspect : marge submergée arborescente. Croissance du mycélium en profondeur selon trois ou quatre faisceaux principaux byssoïdes, rayonnant à partir de l'implant. Culture d'aspect glabre, creux avec des reliefs irréguliers correspondant aux faisceaux de mycélium profond parfois soulignés en surface par un léger feutrage de mycélium aérien. Dans les cultures âgées de plus de 6 semaines et exposées à la lumière, apparition de petites plages circulaires cotonneuses blanches puis brique clair qui donnent naissance à des aiguillons à hyménium fertile. Milieu de culture et mycélium légèrement teintés de rose; présence de petites taches rouges orangées correspondant à des amas de cristaux. Odeur nulle, dessous inchangé avant 6 semaines, devenant entièrement rose brunâtre avec l'âge.

- microscopie (marge) : hyphes génératrices régulières, 1,5-3  $\mu$ m, à paroi mince et à boucles constantes contenant de nombreux corpuscules lipidiques; très rares fibres : ces dernières, par contre, sont très nombreuses dans les plages cotonneuses. Les pigments observés dans les cultures de *Steccherinum bourdotii* ont été étudiés par N. ARPIN & J. FAVRE-BONVIN; les résultats doivent être publiés prochainement. Nous en résumerons ici l'essentiel.

Deux types de pigments ont été isolés :

- un pigment orange, la phlébiarubrone connue jusqu'à présent dans les cultures mycéliennes de *Phlebia strigosozonata* = *Punctularia strigosozonata*, Basidiomycètes-Corticiaceae (Mc MORRIS & ANCHEL, 1963).

- un pigment rouge pourpre, l'hydroxy-4'-phlébiarubrone découvert récemment dans les cultures mycéliennes de *Punctularia atropurpurascens*, Basidiomycètes-Corticiaceae (ANKE & al., 1984).

Toutes les observations faites ci-dessus sont valables pour l'espèce récoltée sur *Sarothamnus* et à spores plus petites. La seule différence réside dans la vitesse de croissance qui est de 30-35 mm en 6 semaines pour cette espèce au lieu de 90 mm pour *Steccherinum bourdotii*.

**Deuxième groupe** : trois récoltes sur *Sarothamnus* et *Ulex*. Les différences avec l'espèce précédente sont minimes et d'autres récoltes permettraient de préciser nos observations : spécimens petits, toujours résupinés, subiculum plus mince, jamais duplex, spores légèrement plus petites. Elle paraît correspondre à une espèce récemment décrite du Brésil sous le nom de *Steccherinum subochraceum* Bononi et Hjorst. Des tests d'intercompatibilité entre mycéliums haploïdes de récoltes des deux continents seraient souhaitables.

#### Récolte de cette espèce.

- 4472-AD : La Richardais, Ille-et-Vilaine, sur *Ulex*, 03.10.83 (Cannac).
- 4473-AD : La Richardais, Ille-et-Vilaine, sur *Ulex*, 03.10.83 (Cannac).
- 4474-AD : La Richardais, Ille-et-Vilaine, sur *Sarothamnus*, 03.10.83 (Cannac).

### *STECCHERINUM RHOIS* (SCHW.) BANKER

*Mem. Torrey Bot. Club* 12 : 12 (1906)

**Basionyme** : *Hydnum rhois* in Schw., *Schriften Naturf. Ges. Leipzig* 1 : 103 (1822); Fries, *Elench. Fung.* 1 : 134 (1828).

*Steccherinum rhois* est une espèce dont l'identité est contestée : elle est soit ignorée de la plupart des mycologues, soit mise en synonymie avec *St. ochraceum*. Elle s'en distingue cependant par un certain nombre de caractères et les tests négatifs d'intercompatibilité avec les trois espèces regroupées sous le nom d'ultra-species *Steccherinum ochraceum* confirment qu'elle correspond bien à un taxon autonome.

#### Description des carpophores.

Carpophores de petite taille, dimidiés, flabelliformes, fixés au support par une région rétrécie formant parfois un pseudostipe. Surface supérieure tomenteuse à hirsute, blanchâtre à grisâtre, parcourue par trois à quatre sillons concentriques dans lesquels le tomentum est plus abaissé et feutré. Marge relativement aiguë et enroulée sur les spécimens secs. Face fertile à aiguillons cylindriques, de 1-2 mm de longueur, pulvérulents. Contexte duplex blanchâtre avec une zone supérieure cotonneuse lâche, séparée de la zone contiguë aux aiguillons par une fine ligne plus foncée, souvent brune et cornée.

Système hyphal dimitique; le tomentum est formé en majorité d'hyphes squelettiques très peu ramifiées, aux parois de 1 mm d'épaisseur, disposées obliquement et même perpendiculairement à la surface du chapeau; très rares hyphes génératrices, bouclées et à parois fines. Ces hyphes deviennent beaucoup plus nombreuses dans le contexte ainsi que dans la trame où elles sont disposées avec les hyphes squelettiques parallèlement à l'axe des aiguillons.

Basides claviformes à quatre stérigmates, pseudocystides à partie apicale incrustée sur une longueur variant de 7 à 65  $\mu\text{m}$ , assez rares et peu émergentes. Spores ellipsoïdes, à paroi lisse, hyaline, 3-4 x 1,8-2,5  $\mu\text{m}$ .



Figure 2 : Répartition de ▼ *St. bourdotii*, □ *St. rhois*, ■ *St. robustius*.

Habitat : sur feuillus, *Fagus*, *Quercus*, *Fraxinus*.

#### Récoltes de *Steccherinum rhois*.

- 3467-PL : Jouéou, Haute-Garonne, sur tronc écorcé, 21.09.59 (Boidin).
- 6708-PL : Louisiane, U.S.A., 08.71 (David).
- 10245-PL : Loubieng, Pyrénées-Atlantiques, sur *Fagus*, 20.10.83 (Vivant).
- 4620-AD : Primorsk, U.R.S.S. Extr. Orient, sur *Quercus mongolica*, 18.07.85 (Parmasto n° 106808).
- 4621-AD : Primorsk, U.R.S.S. Extr. Orient, sur *Fraxinus mandschurica*, 23.07.85 (Parmasto n° 106847).

L'étude morphologique du type de *St. rhois* confirme nos observations et notre décision de considérer en tant qu'espèce ce groupe de champignons.

Remarques : cette espèce présente les caractéristiques microscopiques de *St. ochraceum* mais elle s'en distingue notamment par la morphologie externe : port flabelliforme, surface supérieure très hispide, contexte nettement duplex en coupe avec la présence presque constante d'une ligne brune séparant le contexte du tomentum. Cette espèce n'a été récoltée, en France, que dans les Pyrénées mais semble par ailleurs avoir une très large répartition dans l'hémisphère nord.

#### Étude du mycélium en culture.

– Spores et germinations : les spores uninucléées germent en 4-5 jours et donnent naissance à des hyphes dont les articles sont uninucléés.

– Sexualité : faite sur la récolte 3467-PL.

$A_1 B_1$	1	$A_2 B_2$	2-4-7-8
$A_1 B_2$	3-10	$A_2 B_1$	5-6-9

– Polysperme :

• croissance rapide (boîte de 90 mm de diamètre couverte en 3 semaines).

• aspect marge : mycélium entièrement submergé, à vagues stries radiales vues par transparence; surface céracée, brillante. Très fin bourrelet blanc cotonneux autour de la culture, sur le pourtour de la boîte correspondant à la formation de fructifications dès la quatrième semaine.

• microscopie : mycélium appliqué et submergé constitué d'hyphes génératrices peu ramifiées, 2-3  $\mu\text{m}$  et beaucoup plus rarement jusqu'à 5-7  $\mu\text{m}$ , contenant des corpuscules lipidiques réfringents, à parois fines ou exceptionnellement très épaissies. Ces hyphes se retrouvent dans le mycélium périphérique cotonneux, certaines d'entre elles possèdent des extrémités légèrement élargies et entourées de cristaux; fibres très rares devenant beaucoup plus nombreuses dans les zones cotonneuses correspondant aux ébauches de fructifications.

• oxydases :

gaiacol 0.2 %o	+++++, cr. : 16 à 20 mm	tyrosine —, 0
2 %o	+++	
acide gallique	++++ (+), cr. : 0	paracrésol —, 0

• Comportement nucléaire : normal.

– Code : 2-3-8-32-36-43-54-60-61.

Les résultats des confrontations faites entre les mycéliums monospermes sont résumés ci-dessous (F : fructification) : il est intéressant de remarquer qu'il y a interfertilité entre représentants américain (Louisiane), français et russes.

	6708 PL Louisiane	10245 PL France	4620 AD U.R.S.S.	4621 AD U.R.S.S.
	1-2	1-2	1-2	1-2
3467 PL	+	+	+	+
France	F	F	F	F
I, II, III, IV,				



***STECCHERINUM ROBUSTIUS* (J. ERIKSS. & LUND.) J. ERIKSS.**  
*Symb. Bot. Upsal.* 16 : 134 (1958)

**Basionyme :** *Mycoleptodon robustior* Erikss. & Lund., in Lundell S. & Nannfeldt J.A.F., *Fung. Exs. Suec.* n° 2147, p. 26 (1953).

Cette espèce, sans doute confondue avec *Steccherinum ochraceum*, n'a, jusqu'à ce jour, jamais été signalée en France. C'est pour cette raison que nous donnons une description.

**Description des carpophores.**

Carpophores résupinés, couvrant de grandes surfaces, jusqu'à plusieurs dm de longueur.

Hyménium hydnoïde à aiguillons coniques ou subulés, rarement bi ou trifides, parfois aplatis, de 1,5-2,5 (3)  $\mu\text{m}$  de longueur, de couleur souvent vive, brun orangé (5YR 6/8-7/8). Subiculum cotonneux, blanchâtre en section, de 0,1-3 mm d'épaisseur. Marge étroite, irrégulière, subfimbriée, signalée par ERIKSSON & al. (1984) comme jaunâtre sur matériel frais, se détachant du support en séchant.

Système d'hyphes dimitiques; hyphes génératrices à paroi mince ou épaissie, 2,5-4  $\mu\text{m}$ , régulièrement bouclées et hyphes squelettiques très nombreuses. Basides claviformes à quatre stérigmates; pseudocystides à apex fortement incrusté sur une longueur de 20 à 80  $\mu\text{m}$  et jusqu'à 20  $\mu\text{m}$  de largeur. Spores ellipsoïdes à paroi mince, non amyloïde, acyanophile, (4.2)4,6-4.8(5) x (2.1) 2,5-3  $\mu\text{m}$ .

**Récoltes de *Steccherinum robustius*.**

- 3484-PL : Luchon, Haute-Garonne, sur tronc de *Fagus*, 21.09.59 (Boidin).
- 5784-PL : Massif de la Ste Baume, Var, sur *Fagus*, 11.02.67 (Boidin).
- 4225-AD : Belley, Ain, 18.10.81 (Abbé Bozonnet).
- 4507-AD : Massif de la Ste Baume, Var, sur *Fagus*, 01.11.83 (David).
- 4575-AD : Avignon, Vaucluse, 14.10.84 (Riousset).
- 4619-AD : Primorsk, U.R.S.S. Extr. Orient, sur *Quercus mongolica*, 24.07.85 (Parmasto n° 106862).
- 821-H : Uppsala, Suède, sur *Ulmus*, 14.11.82 (Hallenberg).

Habitat : sur feuillus, principalement sur *Fagus* et *Ulmus*. ERIKSSON & al. le signalent également sur *Fraxinus* et précisent «on humid and calcareous soil», particularité qui semble être confirmée pour nos récoltes.

Remarques : *St. robustius* se reconnaît facilement sur le terrain à sa couleur vive roux orangé, à ses aiguillons subulés, relativement longs. Microscopiquement il se distingue de *St. ochraceum* par ses grosses cystides incrustées et ses spores légèrement plus grandes.

**Étude du mycélium en culture.**

Les résultats ci-dessous ont été résumés dans le travail de BOIDIN & LAN-

QUETIN (1984). Nos observations ont été faites sur les récoltes LY-AD 4225 et LY-PL 5784.

— Spores et germinations : les spores uninucléées germent en 4-5 jours et donnent naissance à des germinations dont les articles sont uninucléés.

— Sexualité : l'espèce s'est révélée tétrapolaire,

$A_1 B_1$	1-3	$A_2 B_2$	2-6-7
$A_1 B_2$	4-5-8-10	$A_2 B_1$	9

— Polysperme :

— croissance rapide à moyenne (boîte de 90 mm de diamètre couverte en 3 ou 4 semaines).

— aspect : mycélium aérien cotonneux laineux, blanchâtre puis très légèrement beige rosé par endroits, recouvrant presque complètement le milieu de culture, plus dense et élevé à la périphérie de la boîte; il subsiste cependant des plages plus ou moins étendues et irrégulières à mycélium appliqué, laissant voir le milieu par transparence. Dessous inchangé, légère odeur.

— microscopie : mycéliums aérien et appliqué sont formés d'hyphes génératrices régulières peu ramifiées contenant des corpuscules lipidiques réfringents; dans le mycélium cotonneux présence possible de très rares fibres.

— oxydases :

gaiacol 0,2 ‰	++++	tyrosine	-, tr.
2 ‰	+++		
acide gallique	+++	paracrésol	-, 0

— Comportement nucléaire normal.

— Code : 2-3-8-32-36-43-44-54-60-61.

*Steccherinum robustius* est une espèce facile à reconnaître sur le terrain à ses fructifications brun rougeâtre à brun orangé et à ses aiguillons relativement longs (jusqu'à 3 mm). Microscopiquement elle se distingue de *St. ochraceum* par ses cystides et ses spores légèrement plus grandes. MAAS GEESTERANUS (1974) avait synonymisé cette espèce avec *St. laeticolor* (Berk. et Curt. apud Berk.) Bank. décrit d'Amérique. ERIKSSON & al. (1984), après une étude comparative de *St. robustius* et *St. laeticolor* arrivent à la conclusion que ce sont deux espèces différentes. Nous avons également étudié les types de ces deux espèces et concluons comme les auteurs précédemment cités. Nous avons reçu de J. GINNS des cultures de *St. laeticolor* : l'aspect du mycélium polysperme est très différent de celui de *St. robustius*. Il n'est pas cotonneux élevé mais appliqué, aranéeux et surtout dégage une odeur plus forte et différente. Les confrontations effectuées entre monospermes de ces deux espèces sont entièrement négatives et confirment ainsi les observations d'ERIKSSON & al. Par contre les confrontations faites entre haplontes de *St. robustius* sont toutes positives.

CLÉ DES *STECCHERINUM* EUROPÉENS

- 1 - hyphes génératrices sans boucles . . . . . 2
- 1 - hyphes génératrices bouclées . . . . . 3
- 2 - carpophores facilement détachables du support, aiguillons cylindriques, chamois, ocracés, spores 3-3,5 x 2-2,5  $\mu\text{m}$  . . . . .  
     . . . . . *\*Steccherinum subcrinale* (Peck) Ryv. (1978)
- 2 - carpophores non facilement détachables, aiguillons plus ou moins coniques, crème, spores 3,5-4 x 2  $\mu\text{m}$  . . . . . *\*Steccherinum cremeoalbum* Hjortst. (1984)
- 3 - carpophores petits, tendres, blanchâtres; hyménium à palettes; ressemble à *Irpex lacteus* avec lequel il a été longtemps confondu . . . . .  
     . . . . . *Steccherinum oreophilum* Linds. & Gilbn. (1977)
- 3 - carpophores plus gros, plus coriaces et à aiguillons le plus souvent subulés 4
- 4 - carpophores résupinés, blanchâtres, crème ou violacés, à rhizomorphes plus ou moins développés . . . . . 5
- 4 - carpophores résupinés, étalé-réfléchis à dimidiés, pas de rhizomorphes . . 6
- 5 - hyménium odontoïde, violacé pâle ou gris rougeâtre, présence de rhizomorphes de même couleur; espèce commune . . . . .  
     . . . . . *Steccherinum fimbriatum* (Pers.: Fr.) J. Erikss. (1958)
- 5 - hyménium à aiguillons blancs ou crème puis jonquille-ocracé, bordure avec rayons rhizoïdes courts; espèce rare . . . . .  
     . . . . . *\*Steccherinum litschaueri* (Bourd. & Galz.) J. Erikss. (1958)
- 6 - carpophores toujours résupinés, assez étendus: surface hyméniale souvent de couleur foncée, rouge orangé, brun orangé, aiguillons subulés jusqu'à 3 mm de longueur, spores 4,2-4,8 (5) x (2,2) 2,5-3  $\mu\text{m}$  . . . . .  
     . . . . . *Steccherinum robustius* (J. Erikss. & Lund.) J. Erikss. (1958)
- 6 - carpophores résupinés, étalé-réfléchis à subdimidiés, plus clairs, blanchâtre à crème, crème ocracé, saumon . . . . . 7
- 7 - spores ovales élargies à subglobuleuses, espèce souvent dimidiée conchoïde . . . . .  
     . . . . . *Steccherinum bourdotii* nov. sp.
- 7 - spores plus étroites, ellipsoïdes . . . . . 8
- 8 - carpophores le plus souvent dimidiés, petits, sessiles ou avec un pseudo-stipe; présence constante entre la chair du chapeau et le tomentum supérieur d'une fine ligne brune . . . . . *Steccherinum rhois* (Schw.) Bank (1906)
- 8 - carpophores résupinés, étalé-réfléchis, sans ligne brune . . . . .  
     . . . . . *Steccherinum ochraceum* (Pers.:Fr.) S.F. Gray (1821)

## REMERCIEMENTS

Nous remercions vivement les très nombreux mycologues français et étrangers pour l'envoi de matériel frais ou de mycéliums en culture. Sans eux, ce travail n'aurait pu être mené à bien. Monsieur I. Mouravieff a eu la gentillesse de nous traduire plusieurs pages de l'ouvrage de Nikolajeva; qu'il trouve ici le témoignage de notre très vive reconnaissance.

\* non encore récolté en France.

Monsieur le Professeur J. Boidin a bien voulu porter un jugement critique sur le contenu de cet article; nous lui en sommes très reconnaissant. Notre gratitude s'adresse en outre à Messieurs les Directeurs des mycothèques suivantes : The National Fungus collections (B.P.I.), Crops research division, U.S. department of Agriculture, West Beltsville, Maryland (U.S.A.), pour le prêt de carpophores d'*Hydnum rhois* (Schw.) Banker de l'herbier de Schweinitz, Michener XI, sheet 14. The Farlow Herbarium (FH) and reference library of Harvard University, Cambridge, Massachusetts (U.S.A.), pour le prêt de carpophores de *Hydnum rhois* (Schw.) Banker n° 92 de l'herbier de Curtis. The Royal Botanic Garden (K), Kew (Angleterre), pour le prêt de matériel. The Herbarium of Uppsala University (UPS) Uppsala (Suède), pour le prêt de *Mycoleptodon robustior*, Herbier de Lundell, Fung. exs. suec. n° 2147 (type matériel) et *Hydnum pudorinum* Fries (*Hydnum rubiginosum* Dre, 1823, *Dichroum* Pers.).

## BIBLIOGRAPHIE

- ANKE H., CASSER I., HERRMANN R. und STEGLICH W., 1984 — Neue Terphenylchinone aus Mycelkulturen von *Punctularia atropurpurens* (Basidiomycètes) (1). *Z. Naturf.* 39c : 695-698.
- BANKER J.L., 1912 — Type studies in the Hydnaceae II - The genus *Steccherinum*. *Mycologia* 4 : 309-319.
- BOIDIN J., 1958 — Essai biotaxonomique sur les Hydnes résupinés et les corticiés. Étude spéciale du comportement nucléaire et des mycéliums. *Rev. Mycol., Mém. Hors série* n° 6, 387 p.
- BOIDIN J., 1966 — Basidiomycètes Corticiaceae de la République Centrafricaine I. Le genre *Gloeocystidiellum* Donk. *Cah. Maboké* 4 : 5-17.
- BOIDIN J., 1986 — Intercompatibility and the species concept in the saprobic Basidiomycotina. *Mycotaxon* 26 : 319-336.
- BOIDIN J. et LANQUETIN P., 1984 — Répertoire des données utiles pour effectuer les tests d'intercompatibilité chez les Basidiomycètes III - Aphyllophorales non porées. *Cryptogamie, Mycol.* 5 : 193-245.
- BOURDOT H. et GALZIN A., 1928 — Contribution à la flore mycologique de la France. I. Hyménomycètes de France - Hétérobasidiés - Homobasidiés - Gymnocarpes. Sceaux, M. Bry. 761 p.
- CHRISTIANSEN M.P., 1960 — Danish resupinate fungi, Part II. Homobasidiomycètes. *Dansk. Bot. Ark.* 19 : 60-388.
- DAVID A. et BOIDIN J., 1984 — Présence en Europe du *Steccherinum oreophilum* (Basidiomycète) décrit d'Amérique du Nord. *Mycotaxon* 21 : 427-430.
- ERIKSSON J., HJORTSTAM K. and RYVARDEN L., 1984 — *The Corticiaceae of North Europe*, Vol. 7. Oslo, Fungiflora : 1385-1413.
- FRIES E.M., 1828 — *Elenchus fungorum sistens Commentarium in Systema mycologicum volumen*, Vol. I. Greifswald, E. Mauriti, 238 p.
- FRIES F.M., 1874 — *Hymenomycetes Europaei sive Epicriseos systematis mycologici*. Editio altera, Uppsala, Berling, 756 p.
- GROSSE-BRAUCKMANN H., 1986 — *Steccherinum oreophilum* und *Steccherinum «robustum/laeticolor»* (ss. Jahn 1969/1979) - Zu einigen nomenklatorischen taxonomischen Missverständnissen und über Funde in der BRD. *Z. Mykol.* 52 : 363-371.

- HJORTSTAM K. and BONONI V.L., 1986 — Studies in tropical corticiaceae (Basidiomycetes). VI. A new species of *Steccherinum* from Brazil. *Mycotaxon* 25 : 467-468.
- MAAS GEESTERANUS M., 1974 — Studies in the genera *Irpex* and *Steccherinum*. *Persoonia* 7 : 504-545.
- McMORRIS T.C. and ANCHEL M., 1963 — The structure of the Basidiomycete orthoquinone phlebiarubrone and of its novel acetylation product. *Tetrahedron* 23 : 3985-3991.
- NIKOLAJEVA T.L., 1961 — *Familia Hydnaceae*. Flora Plantarum Cryptogamarum U.R.S.S. 6 Fungi (2), 432 p.
- NOBLES M.K., 1948 — Cultural characters as a guide to the taxonomy and phylogeny of the Polyporaceae. *Canad. J. Bot.* 36 : 883-926.
- NOBLES M.K., 1965 — Identification of cultures of wood-inhabiting Hymenomycetes. *Canad. J. Bot.* 43 : 1097-1139.
- PARMASTO E., 1968 — *Conspectus systematis Corticiacearum*. Tartu, Academie des Sciences d Estonie, R.P.S.S. 261 p.
- PERSOON C.H., 1825 — *Mycologia europaea*, 11. Erlanger, 214 p.



## SOME NUTRITIONAL REQUIREMENTS OF SPOILAGE MOLDS OF PINEAPPLE FRUIT

by V.A. ADISA\*

**ABSTRACT** – The utilization of 6 carbon and 7 nitrogen sources by 6 pineapple fruit pathogens : *Ceratocystis paradoxa*, *Rhizopus stolonifer*, *R. oryzae* (soft rot spoilage molds), *Curvularia verruculosa*, *Penicillium claviforme* and *Aspergillus flavus* (dry rot spoilage molds) for their growth was determined. The dry rot molds only grew well on glucose and sucrose while the soft rot molds substantially utilized all the carbon sources. All the molds grew well on casein hydrolysate. The 2 inorganic nitrogen sources did not support the growth of the molds except *P. claviforme*. All the organic nitrogen sources supported good growth of *C. paradoxa* and *C. verruculosa*.

**RÉSUMÉ** – L'utilisation de 6 sources de carbone et de 7 sources d'azote a été déterminée pour la croissance de 6 agents d'altération des fruits d'ananas : *Ceratocystis paradoxa*, *Rhizopus stolonifer*, *R. oryzae* (responsables de la pourriture molle), *Curvularia verruculosa*, *Penicillium claviforme* et *Aspergillus flavus* (responsables de la pourriture sèche). Seuls les champignons de la pourriture sèche présentent une bonne croissance sur le glucose et le saccharose, tandis que les champignons de la pourriture molle ont utilisé substantiellement toutes les sources de carbone. Tous les champignons présentent une bonne croissance sur l'hydrolysate de caséine. Les 2 sources d'azote inorganique n'ont aucune influence sur la croissance des champignons, exception faite du *P. claviforme*. Toutes les sources d'azote organique donnent une bonne croissance du *C. paradoxa* et du *C. verruculosa*.

**KEY WORDS** : fruit spoilage molds, nutritional requirements, pineapple.

### INTRODUCTION

The pineapple fruit is used as a supplement in the Nigerian diet. The edible portion, constituting approximately 60 % of the fruit (PURSEGLOVE, 1972) is basically of carbohydrate (glucose 9700-12000 mg per 100 mg fruit) and protein (3600-5000 mg per 100 g fruit) nature (DUCKWORTH, 1966). BHARGAVA (1974) reported the utilization of sucrose after hydrolysis, maltose and cellobiose through transglycosidation by 3 storage rot fungi : *Fusarium solani* (Mattius) Saccardo, *Botryodiplodia ananassae* and *Macrophomina phaseoli* (Maublanc) Ashby. The work of PATHAK (1971) showed that the mango fruit

\* Department of Botany and Microbiology, University of Ibadan, Ibadan, Nigeria.

stem-end rot mold, *Diplodia natalensis* Pole Evans, did not grow well in nitrogen sources though the mold preferentially utilized cellulose and pectin for growth. Four isolates of *Botryodiplodia theobromae* Pat. utilized polysaccharides including starch and dextrin (SRIVASTAVA & TANDON, 1969). TERUI & HARADA (1970) reported that glucose, saccharose and pectin were the best sources of carbon for the brown rot organism, *Monilinia fructicola* (Winter) Honey.

The preferential utilization of the carbon and nitrogen sources by these various fruit spoilage molds might have an influence on their ability to produce the types of deterioration on their respective fruit as substrates. Carbon and nitrogen compounds have an unparallel role in the nutritional physiology of these fungi.

In an earlier study, it was shown that *C. paradoxa* produced spoilage of unripe pineapple fruit when certain concentrations of carbon and nitrogen infusions were applied on mature green fruits (ADISA, 1983). This mold causes soft spoilage with the production of watery fluid. Therefore the nutritional requirements of the dry and soft spoilage molds would be different. The 6 molds under investigation are soft and dry rot molds of the pineapple fruit. The utilization of some carbon and nitrogen sources for growth by these molds was investigated and the results obtained are presented in this paper.

## MATERIAL AND METHODS

The fungi used — *Ceratocystis paradoxa* (Dade) C. Moreau (IMI 223309), *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb. ex Fr.) Lind. (IMI 223284), *R. oryzae* Went & Prinsen Geerligs (IMI 223286), soft rot molds; *Curvularia verruculosa* Tandon & Bilgrami (IMI 223307), *Penicillium claviforme* Bainer (IMI 223298) and *Aspergillus flavus* Link ex Fr. (IMI 223288), dry rot molds — were reported as spoilage molds of pineapple fruits in Nigeria (ADISA & FAJOLA, 1982).

The effects of carbon and nitrogen sources on the growth of the fungi were investigated. The carbon sources used include D-glucose, sucrose, dextrin, starch (soluble potato), carboxymethylcellulose (Na salt, CMC) and pectin (apple grade 250). The nitrogen sources used were : DL-aspartic acid, L-asparagine, L-lysine, DL-glutamic acid, casein hydrolysate, ammonium sulphate and sodium nitrate.

The basal medium for these growth studies contained : D-glucose, 5000 mg;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 750 mg; distilled water, 1000 ml (pH 6.0). All salts were «Analar» grade (BDH Laboratories). This medium was stabilized with citric-acid-phosphate buffers before autoclaving at  $121^\circ C$  for 15 min. (for carbon sources) and 10 min. (for nitrogen sources). 25 ml of each medium was distributed into 250 ml flasks and the pH adjusted to 7.0 before autoclaving. For the effects of carbon and nitrogen sources requirements on mycelial production by fungi, D-glucose and the nitrogen source in the basal medium were respectively replaced by each of the carbon and nitrogen sources used to give 0.8 g carbon/l (OSO, 1974) and 0.485 g nitrogen/l (HASIJA & AGARWAL, 1978) except for starch,

dextrin, pectin and CMC which were added to give 20 g/l of basal and casein hydrolysate to give 5 g/l.

For inoculum, the fungi were cultivated on 2 % malt extract agar for 3 days. A 5 mm diameter of ■ fungus was inoculated in each flask and incubation was done at 25°C for 5 days without agitation. Inoculated basal medium served as control. The mycelium produced was determined by the dry weight method.

## RESULTS

Glucose and sucrose generally supported the growth of all the fungi with *C. verruculosa* and *P. claviforme* producing the highest mycelia on them respectively (Table 1). Though starch and dextrin substantially gave good growth for all fungi, carboxymethylcellulose and pectin were not well utilized by *A. flavus*, *P. claviforme* and *C. verruculosa*. But *R. stolonifer*, *R. oryzae* and *C. paradoxa* grew well on the two polysaccharides (Table 1).

Carbon source	Quantitative production of mycelium (mg) by rot pathogens within specified pH ranges											
	<i>Claviceps purpurea</i>		<i>Rhizopus stolonifer</i>		<i>Rhizopus oryzae</i>		<i>Chaetomium nermicostae</i>		<i>Penicillium claviforme</i>		<i>Aspergillus flavus</i>	
	a	1	b	2	c	3	d	4	e	5	f	6
D-glucose	128.0±1.4	5.8	94.0±0.8	6.0	78.4±1.6	5.8	140.6±1.3	6.5	130.1±1.1	5.6	68.0±1.1	5.6
Sucrose	119.6±1.1	6.0	103.8±1.3	6.0	73.9±1.0	7.0	118.5±1.6	6.8	134.8±0.6	5.5	61.2±0.5	5.8
Dextrin	104.3±0.8	6.0	85.1±0.6	7.3	83.3±1.2	6.0	86.5±0.8	6.3	50.8±0.7	6.0	54.0±1.5	5.3
Starch	98.6±0.3	5.7	66.7±1.0	7.0	70.0±1.0	6.5	98.5±1.0	6.6	41.6±0.6	6.8	47.6±1.7	6.8
CMC**	84.6±1.5	6.0	63.7±0.9	6.1	76.1±0.5	6.0	21.6±0.4	7.0	19.4±0.5	6.0	29.6±1.3	5.0
Pectin	96.7±1.9	5.5	67.9±1.2	7.2	66.5±1.4	6.5	30.5±1.2	7.0	23.0±1.3	6.0	22.1±0.6	5.7

a-f = dry weight mycelium in mg/25ml of medium of rot pathogens (minus control values);  
1-6 = pH of filtrates after experiment; \* = standard error; \*\* = Na salt of carboxymethyl cellulose.

Table 1 — Growth of 6 pineapple fruit rot pathogens in liquid media containing 6 carbon sources, after 5 days incubation at 25°C (Data are means of 5 replicates).

Tableau 1 — Croissance de 6 agents pathogènes de la pourriture de l'ananas, sur milieux liquides contenant 6 sources de carbone, après 5 jours d'incubation à 25°C (Moyennes de 5 répétitions).

Inorganic nitrogen sources did not give good growth for all fungi, however, they all recorded highest growth on casein hydrolysate (Table 2). *C. paradoxa* grew well on L-asparagine and L-glutamic acid. The *Rhizopus* spp. recorded some appreciable growth on L-lysine. DL-aspartic acid, L-asparagine, L-lysine and L-glutamic acid supported good growth of *C. verruculosa*. Except in casein hydrolysate, *P. claviforme* produced the highest mycelium in ammonium sulphate and sodium nitrate. *A. flavus* grew well only in DL-glutamic acid. The pH of the filtrates after the experiments ranged between 5.0 and 7.3 (for carbon sources) and 5.7 and 8.1 (for nitrogen sources). The production of high quantity of mycelia occurred both at low and high pH values.

Nitrogen source	Quantitative production of mycelium (mg) by rot pathogens within specified pH ranges											
	<i>Aspergillus paradoxus</i>		<i>Aspergillus stolonifer</i>		<i>Aspergillus niger</i>		<i>Botryodiplodia theobromae</i>		<i>Botryodiplodia dothidea</i>		<i>Botryodiplodia flava</i>	
	a	1	b	2	c	3	d	4	e	5	f	6
DL-aspartic acid	49.5±0.9*	6.6	24.0±0.8	7.0	35.9±1.6	7.3	67.5±0.4	6.9	18.2±1.0	6.5	38.1±1.6	11.1
L-asparagine	102.6±1.2	6.3	28.6±0.4	7.1	29.3±1.1	7.3	49.6±1.5	5.8	26.0±1.0	7.0	23.2±1.3	6.9
L-lysine	63.8±1.1	6.5	49.3±1.7	6.8	60.0±0.7	6.8	81.4±1.0	5.7	33.7±0.9	6.4	31.6±1.1	6.7
L-glutamic acid	80.5±0.4	7.2	29.6±1.3	6.5	34.9±0.9	6.5	42.0±0.3	6.8	14.2±0.3	6.8	49.2±1.2	6.0
Casein hydrolysate	134.9±1.6	7.5	56.3±0.6	7.7	72.9±1.0	7.8	138.9±1.8	5.9	86.3±1.3	7.6	72.1±1.3	7.6
Ammonium sulfate	44.5±1.3	8.1	16.5±0.2	7.5	18.7±0.6	7.9	30.0±1.1	7.5	52.3±1.1	7.6	24.9±1.1	8.0
Sodium nitrate	27.9±1.5	7.3	14.2±1.3	7.1	27.0±1.3	6.3	23.9±0.7	6.2	49.6±1.1	7.4	30.3±1.8	6.8

a-f = dry weight mycelium in mg/25ml of medium of rot pathogens (minus control values);  
1-6 = pH of filtrates after experiment; \* = standard error.

Table 2 - Growth of 6 pineapple fruit rot pathogens in liquid media containing 7 nitrogen sources, after 5 days incubation at 25°C (Data are means of 5 replicates).

Tableau 2 - Croissance de 6 agents pathogènes de la pourriture de l'ananas, sur milieux liquides contenant 7 sources d'azote, après 5 jours d'incubation à 25°C (Moyennes de 5 répétitions).

## DISCUSSION

The present study has indicated which of the carbon and nitrogen sources used are suitable for growth of the 6 pineapple fruit molds. Protein and glucose are known to be of high occurrence in the edible portion of the pineapple fruit (DUCKWORTH, 1966). All the organisms were able to grow and utilize the glucose and sucrose satisfactorily. Glucose was found to support good growth of *Aspergillus niger* (HASIJA & WOLF, 1969; SINGH & TANDON, 1971) while *Botryodiplodia theobromae* grew well on some monosaccharides and oligosaccharides (AHMED & HUQ, 1973). Both fungi are common fruit spoilage molds.

*C. verruculosa*, a dry rot mold of the pineapple fruit (ADISA & FAJOLA, 1982), utilized starch and dextrin quite satisfactorily during the present investigation. The other dry rot molds - *P. claviforme* and *A. flavus* - did not grow well on the two polysaccharides. On the other hand, *C. paradoxa*, *R. oryzae* and *R. stolonifer* grew well on all the carbon sources. They produce fruit spoilage of pineapple fruit with watery consistency (ADISA & FAJOLA, 1982). PATHAK (1971) reported good growth of a soft rot mold, *Diplodia natalensis* on starch, pectin and cellulose. *R. stolonifer* satisfactorily utilized pectin and cellulose sources (SPALDING, 1963). This observable difference in the preferential assimilation of carbon sources by these 2 groups (dry and soft molds) of spoilage organisms may indicate that those that produce dry deterioration may produce less complex enzymes for the spoilage or degradation of the food substances in pineapple fruit. The utilization of the more complex polysaccharides and the organic nitrogen sources by soft rot organisms certainly indicates the ability of the orga-

nisms to rely on more complex enzymes to degrade these substrates.

It is perhaps the ability of these fungi to grow on such complex substrates that makes them fast spoilage organisms, producing highly extensive biodeterioration of pineapple fruits. The fruits contain considerable quantity of pectin and cellulose materials. ADISA & FAJOLA (1982) observed that the effects of the spoilage on the fruits by the molds produced fermented fruits and the spoilage is accompanied by offensive odour. The production of aroma and flavour compounds by mould species has been reported by some workers. The formation of alcohols, esters, benzene derivatives, terpenes and specific metabolites by certain fungi as well as aroma characteristics of various species of fungi in culture have been discussed (LATRASSE & al., 1985). This odour might therefore be due to the degradative products produced from the breakdown of the nitrogen and carbon sources present in the pineapple fruits by the metabolites of the molds.

#### REFERENCES

- ADISA V.A. and FAJOLA A.O., 1982 — Post-harvest fruit rots of pineapple (*Ananas comosus*) in Nigeria. *Fitopatol. Bras.* 7 : 97-103.
- ADISA V.A., 1983 — Studies on the nutritional requirements of the latent phase of *Ceratocystis paradoxa* — the pineapple soft rot pathogen in Nigeria. *Nahrung* 27 : 951-956.
- AHMED H.U. and HUQ M., 1973 — Utilization of carbon by three jute pathogens. 1. *Macrophomina phaseoli*, 2. *Botryodiplodia theobromae*, 3. *Colletotrichum corchori*. *Bangladesh J. Biol. Agric. Sci.* 2 : 32-33.
- BHARGAVA S.N., 1974 — Utilization of disaccharides by storage rot fungi. *Indian J. Exp. Biol.* 12 : 112-114.
- DUCKWORTH R.B., 1966 — *Fruit and Vegetables*. Oxford, Pergamon Press, 1st ed. 306 p.
- HASIJA S.K. and WOLF F.T., 1978 — Nutritional physiology of *Trichothecium roseum*. *Mycologia* 70 : 47-60.
- HASIJA S.K. and WOLF F.T., 1969 — The effect of different carbon sources on the sugar composition of the mycelium of *Aspergillus niger*. *Mycopathol. Mycol. Appl.* 39 : 337-343.
- LATRASSE A., DEGORGÉ-DUMAS J.R. and LEVEAU J.Y., 1985 — Formation of flavour compounds by microorganisms. *Sci. Aliments* 5 : 1-26 (Summary in *Food Sci. & Tech. Abstr.* 17 (9) : 4, 1985).
- OSO B.A., 1974 — Carbon source requirements of the thermophilic ascomycete *Chaetomium thermophile* var. *coprophile*. *Z. Allg. Mikrobiol.* 14 : 603-610.
- PATHAK V.N., 1971 — Carbon and nitrogen requirements of *Diplodia natalensis* Pole Evans the incitant of stem-end rot of mango (*Mangifera indica*) fruits. *Nova Hedwigia* 22 : 266e - 266f.
- PURSEGLOVE J.W., 1972 — *Tropical Crops. Monocotyledons 1*. London, Longmans Gr. Ltd., 334 p.
- SINGH R.H. and TANDON R.N., 1971 — The utilization of monosaccharides by *Aspergillus niger*. *Indian Phytopathol.* 24 : 266-269.

- SPALDING D.H., 1963 — Production of Pectinolytic and Cellulolytic enzymes by *Rhizopus stolonifer*. *Phytopathology* 53 : 927-931.
- SRIVASTAVA M.P. and TANDON R.N., 1969 — Utilization of polysaccharides by four isolates of *Botryodiplodia theobromae*. *Indian Phytopathol.* 23 : 349-352.
- TERUI M. and HARADA Y., 1970 — Nutritional requirements of the brown rot fungus *Monilinia fructicola* of fruit trees. *Bull. Fac. Agric. Hirotsaki Univ.* 16 : 123-130.



# DÉGRADATION PAR DES CHAMPIGNONS LIGNIVORES DE LA PAROI CELLULAIRE DE PIN TRAITÉ À DES DOSES SUB-LÉTALES DE PRODUIT DE PRÉSERVATION CHLORÉ

par Danièle DIROL\*

**RÉSUMÉ** — Des cubes d'aubier de Pin sylvestre traités à des doses sub-létales par un produit de préservation chloré ont été exposés pendant 8 et 12 semaines à des cultures de *Coniophora puteana* et de *Trametes versicolor*. La confrontation des champignons avec le bois traité a été observée en microscopie optique et électronique à balayage. La dose la plus faible appliquée entraîne rapidement l'inactivation de l'agent de pourriture cubique dont le développement et l'action destructrice ont été constatés importants sur le bois traité uniquement avec le solvant. Bien qu'il s'agisse de bois résineux exposé à *Trametes versicolor*, il faut comme sur le hêtre des doses très importantes de produit pour protéger le bois contre ce champignon. La formation de cristaux dans les éléments du plan ligneux, indépendants des formations fongiques pour les deux champignons mais plutôt issus du produit lui-même, pose le problème de leur influence sur les hyphes du champignon qui dans le cas de *Trametes versicolor* continuent leur action de destruction.

**SUMMARY** — Cubic samples of scots pine sapwood treated with sub-lethal concentrations of a chlorated preservative were exposed during 8 and 12 weeks to culture of *Coniophora puteana* and *Trametes versicolor*. The confrontation of fungi with treated wood was observed in light and scanning electron microscopy. The smallest amount applied inactivated cubic rot fungi whose development and decay action were very pronounced in wood only treated with solvent. Similarly to beech exposed to *Trametes versicolor*, for soft woods, it is also necessary to apply large amounts of preservative to obtain an effect. Crystalline formations observed in two cases are not always due to the fungus but rather to the preservative itself; they stress the problem of their influence in front of the hyphae of fungi. In the case of *Trametes versicolor*, it goes on its destructive action.

**MOTS CLÉS** : *Trametes versicolor*, *Coniophora puteana*, aubier de pin sylvestre, produit de préservation chloré, doses sub-létales, formations cristallines.

## INTRODUCTION

La colonisation et la phase active d'altération du bois par des champignons lignivores ont été abondamment étudiées (WILCOX, 1970; LIESE, 1970; DIROL, 1976, 1978; RUEL & al., 1981; HIGHLEY & MURMANIS, 1984) simul-

\* Centre Technique du Bois et de l'Ameublement, 10, Avenue de St Mandé, F-75012 Paris.

tanément aux progrès de la préservation permettant aux essences sensibles d'acquérir une durabilité conférée vis-à-vis de ces organismes.

La protection apportée aux bois par les produits de préservation est dans l'ensemble satisfaisante de par l'efficacité des matières actives utilisées et les moyens de traitements mis en œuvre. Toutefois, traiter un bois contre une éventuelle attaque fongique n'est pas une opération simple car le matériau est très diversifié tant au point de vue des éléments cellulaires que des constituants de la paroi elle-même. La matière active fongicide doit pouvoir les pénétrer et le traitement de certaines essences réfractaires comme l'épicéa soulève des difficultés.

De plus, un traitement fongicide vise des organismes microscopiques capables de se répandre dans tout le plan ligneux, pour lesquels, la plupart du temps, une barrière de cellules traitées ne suffit pas à arrêter la progression à l'intérieur de la pièce de bois.

Les possibilités qu'offre actuellement la microscopie électronique pour l'étude de la préservation du bois; techniques histo-chimiques de coloration, d'extraction, d'analyses par micro-sonde adaptée à la microscopie ont permis ces vingt dernières années d'étudier les voies de pénétration et de fixation des matières actives des produits commercialisés (WILCOX & al., 1974; ZICHERMAN, 1975; PARAMESWARAN & LIESE, 1982).

Il est indispensable de connaître comment diffusent les produits dans le bois afin d'améliorer leur répartition. Si les moyens de fixation ont permis une bonne observation de l'ultrastructure, si l'analyse des produits par rayons X est tout à fait possible, les résultats obtenus sont souvent très difficiles à interpréter et la relation produit-attaque reste encore très incertaine. C'est pourquoi, l'idéal serait, par des observations qualitatives, de pouvoir constater une corrélation entre le produit appliqué à des doses inférieures au seuil d'efficacité connu et l'attaque de la paroi ligneuse par le champignon. L'efficacité du produit pourrait alors être appréciée ainsi que sa répartition au sein du plan ligneux et même de la cellule. C'est ce que nous nous proposons d'observer avec un produit de préservation chloré commercialisé appliqué à différentes concentrations dont certaines sont reconnues insuffisantes à la suite des essais effectués selon la Norme Européenne EN-113 (NF X 41-552).

Il faut remarquer que la majeure partie des travaux réalisés dans ce domaine a porté tout particulièrement sur les sels (cuivre-chrome-arsenic ou étain). Leur étude est beaucoup plus aisée que celle du pentachlorophénol pour lequel le chlore pose des problèmes nombreux tels que la sublimation.

## MATÉRIEL ET MÉTHODE

Des cubes d'aubier de pin sylvestre de 1,5 cm de côté, orientés de manière identique, provenant d'une même latte (les valeurs de textures sont sensiblement les mêmes, entre 25 et 30 %) ont été traités sous vide selon les directives de la Norme Européenne EN-113 avec le produit de préservation dilué dans le ben-

zène aux concentrations de 0 - 20 - 30 et 50 litres par mètre cube de bois. Ce produit de préservation est une formulation commerciale à base de pentachlorophénol (PCP) qui comporte, outre cette matière active, des adjuvants de fixation : polymères synthétiques (résines). La quantité de PCP appliquée est en réalité de 1-1,5 et 2,5 kg par mètre cube de bois. Une série de témoins sans aucun traitement a été également prévue. Deux types de pourriture sont étudiés avec *Coniophora puteana* (Schum. : Fr.) Karst. provoquant une pourriture cubique et *Trametes versicolor* (L. : Fr.) Pilat agent de pourriture fibreuse blanche plus connu pour attaquer les bois feuillus comme le hêtre (DIROL, 1976). Ces deux champignons sont utilisés dans les essais normalisés et leur seuil d'efficacité se situe aux environs de 40 l/m<sup>3</sup> pour *C. puteana* sur le pin et est supérieur à 200 l/m<sup>3</sup> pour *T. versicolor* sur le hêtre.

Deux périodes d'exposition sur le milieu classique malt agar ont été choisies : 8 et 12 semaines avec 10 échantillons pour chaque champignon et chaque concentration : 2 sont destinés aux observations en microscopie optique, 2 aux observations en microscopie électronique à balayage et 6 pour le calcul de la perte de masse donnant quantitativement le taux de disparition des constituants de la paroi cellulaire.

## RÉSULTATS DE L'ALTÉRATION DU BOIS DANS SA MASSE

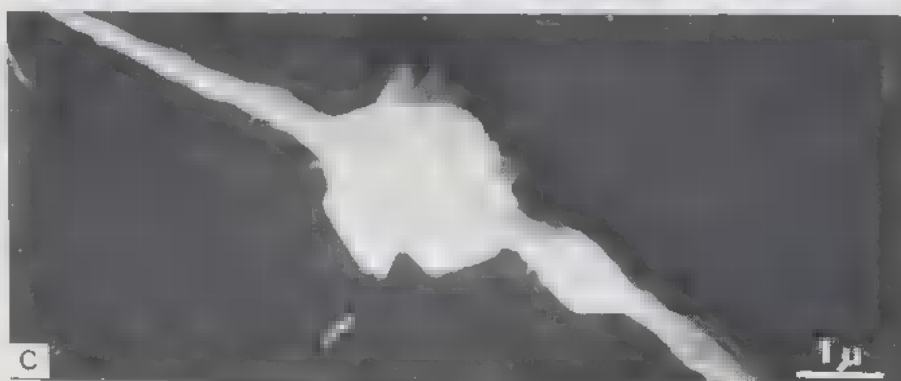
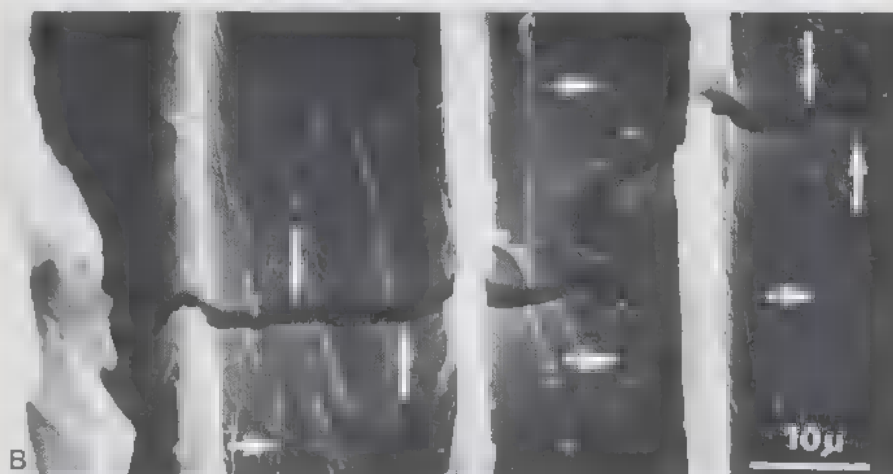
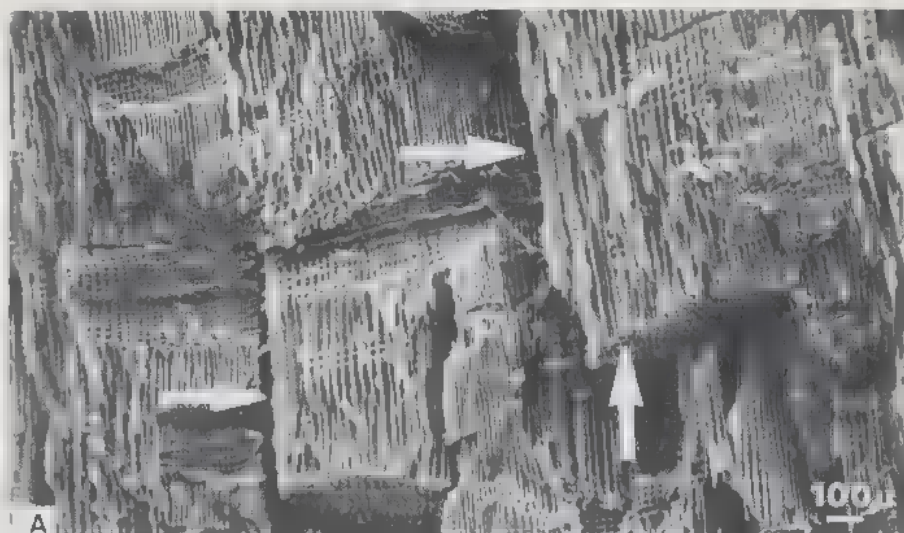
Les valeurs moyennes des pertes de masse obtenues avec les cubes servant de contrôle d'attaque sont données dans le tableau 1 :

Concentrations du produit	CONIOPHORA PUTEANA		TRAMETES VERSICOLOR	
	8 semaines	12 semaines	8 semaines	12 semaines
0 = témoins	51	45	9,5	15,6
Benzène pur	48	59	8,4	17,5
20 l/m <sup>3</sup> de bois	1,9	3,2	6,2	11,9
30 l/m <sup>3</sup> de bois	0,6	1,0	6,0	10,3
50 l/m <sup>3</sup> de bois	0,0	1,1	3,9	7,4

Tableau 1 - Résultats des pertes de masse obtenues sur les échantillons exposés aux cultures (% de la masse sèche initiale).

Table 1 - Results of weight losses obtained on samples exposed to cultures (% of the initial dry weight).

Les résultats obtenus amènent les remarques suivantes :



- Les pertes de masse obtenues avec *Coniophora puteana* sont très importantes pour les témoins et le benzène : ce champignon est en général très virulent et dans le cas présent d'autant plus que les éprouvettes sont de très petite taille. Elles sont moins fortes avec *Trametes versicolor* réputé plus actif sur les feuillus; il faut cependant constater qu'après 12 semaines elles ne sont pas négligeables.

- Le rôle du benzène n'est pas le même après 8 ou 12 semaines dans les deux cas, une stimulation du champignon (très nette pour *C. puteana*) aurait plutôt lieu après la seconde période; ce phénomène a lieu d'ailleurs avec certains solvants; c'est parfois le cas également avec le xylène, alors que le white spirit aurait à lui seul un effet nocif sur le champignon (DIROL, 1986).

- Dès l'application de la première concentration du produit chloré les pertes de masse sont très faibles pour *C. puteana*. Par contre, pour *T. versicolor*, bien que les pertes de masses des témoins soient moins importantes, les différentes concentrations ne parviennent pas à protéger complètement le bois.

Les observations microscopiques des plans ligneux provenant des échantillons vont permettre d'apprécier qualitativement le développement fongique dans chacun des cas.

## DÉGRADATION DE L'AUBIER DE PIN SYLVESTRE PAR *CONIOPHORA PUTEANA*

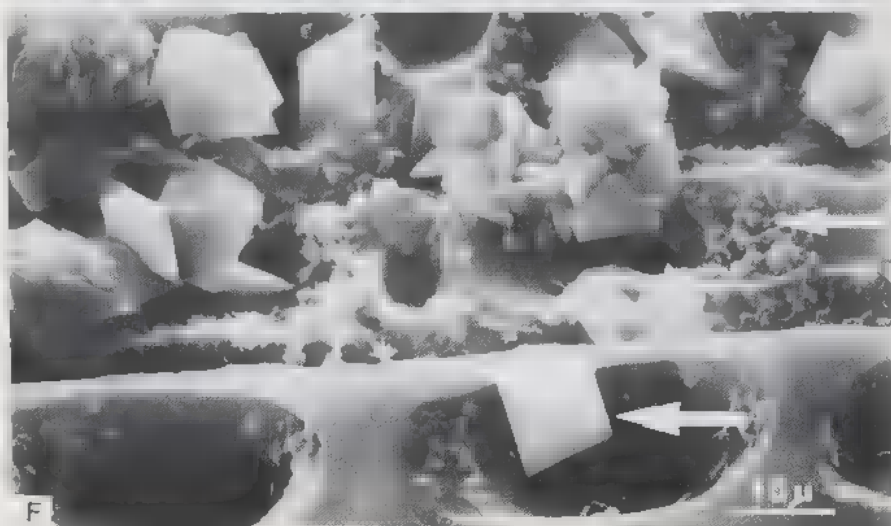
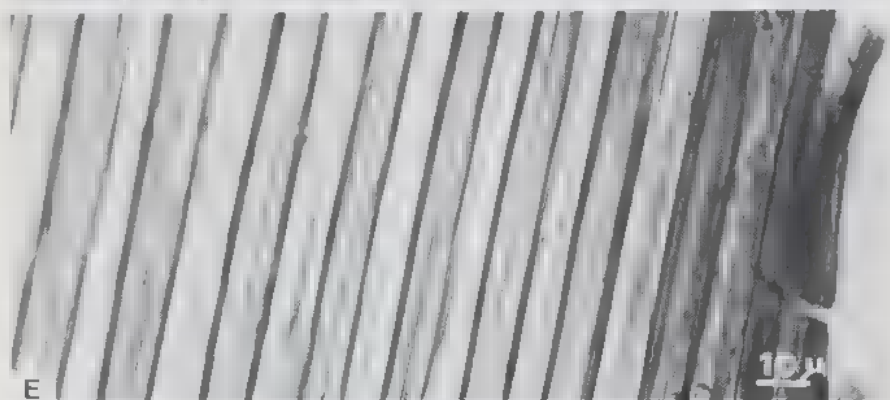
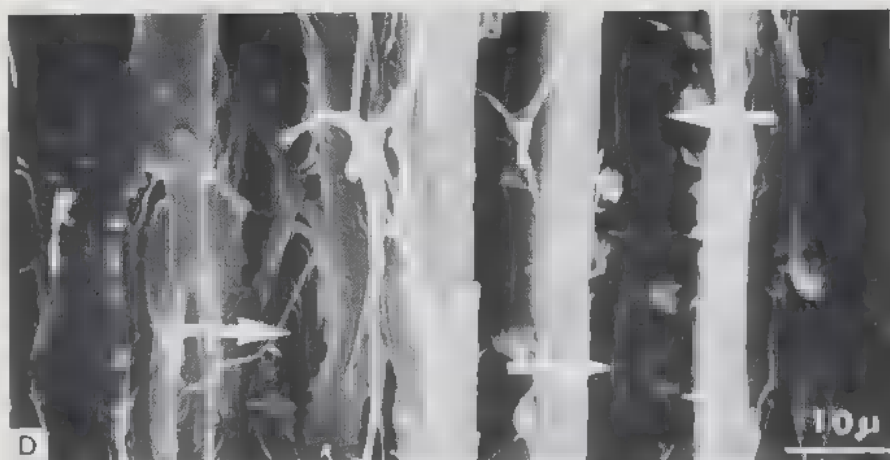
### 1 - Observation des éprouvettes témoins (aucun traitement)

Comme on peut s'y attendre avec les valeurs obtenues sur les pertes de masse, les éléments du bois après 8 ou 12 semaines d'exposition sont considérablement dégradés et l'observation à faible grossissement du plan ligneux montre les fractures typiques de la pourriture cubique avec les fissures et craquelures selon les trois plans du bois (Fig. A). Il va de soi que le bois est extrêmement fragilisé.

Comme cela avait été observé lors de l'étude d'un autre champignon de pourriture cubique, *Serpula lacrymans* (DIROL, 1978), les fissures visibles à l'œil nu ou à la loupe se retrouvent sur le plan microscopique; le départ irrégulier des constituants de la paroi entraîne des tensions provoquant les fentes (Fig. B, flèches). La microscopie électronique à balayage permet également d'observer

Fig. A - Fractures typiques de la pourriture cubique sur les témoins exposés 8 semaines à *Coniophora puteana* (MEB). Fig. B - Formation de fentes transversales et de cavités issues des hyphes dans le bois final attaqué par *Coniophora puteana* après 8 semaines (MEB). Fig. C - Hyphes de *Coniophora puteana* présentant un cristal octaédrique (MEB).

Fig. A - Typical breaks of cubic rot on control samples exposed during 8 weeks to *Coniophora puteana* (SEM). Fig. B - Formation of transverse splits and cavities from hyphae in late wood decayed by *Coniophora puteana* after 8 weeks (SEM). Fig. C - *Coniophora puteana* hyphae showing an octahedral crystal (SEM).





la formation de cavités allongées (en « boutonnière ») à partir de la couche  $S_3$ , vraisemblablement en profondeur dans la couche  $S_2$  où elles suivent l'orientation des microfibrilles de cellulose. Elles n'apparaissent que dans le bois final dont la couche  $S_2$  est riche en cellulose (les agents de pourriture cubique mettant à profit ce constituant de la paroi cellulaire).

Les filaments mycéliens observés dans les fibres présentent sur leur trajet des cristaux (Fig. C). Ceux-ci ont été observés par KAARIK (1978) et déjà NOBLES (1948) les décrivait comme étant octaédriques.

## 2 - Observations des éprouvettes uniquement traitées par le solvant (benzène)

Après 8 semaines d'exposition l'allure de la dégradation est sensiblement la même que dans le bois non traité, les filaments sont nombreux, les ponctuations déformées, les cavités déjà bien visibles. Après 12 semaines, celles-ci sont extrêmement profondes (Fig. D).

## 3 - Observations de l'efficacité absolue du produit de préservation

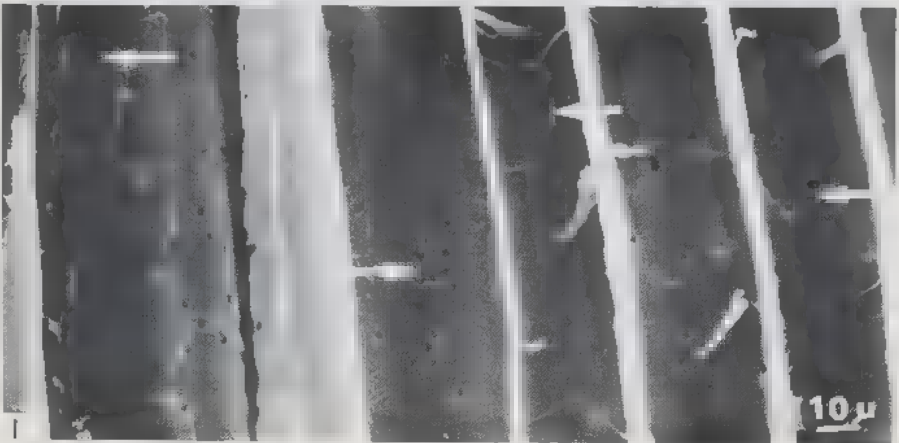
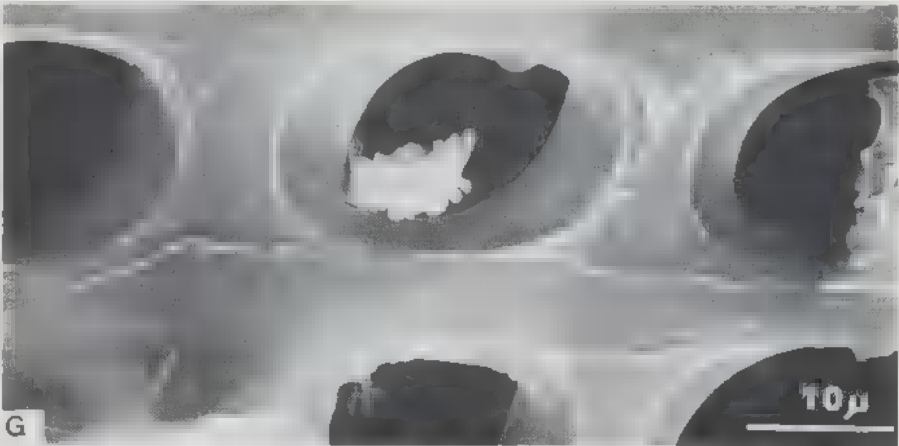
— Traitement du bois à  $20 \text{ l/m}^3$  : après 8 semaines d'exposition, le plan ligneux est peu dégradé et les hyphes ne sont plus reconnaissables. Par contre, on observe des cristaux nombreux rassemblés, en général, sur les ponctuations aréolées. Le fond des parois du bois initial est encore attaqué puisque la  $S_3$ , sans doute fragilisée, a disparu avec la coupe laissant apparaître très souvent l'orientation typique de la  $S_2$ . Dans le bois final aucune dégradation n'est visible avec un temps d'exposition plus long, l'attaque paraît plus profonde mais elle est localisée sur le bord des échantillons facilement accessible en culture par le mycélium; les couches profondes ne sont pas atteintes. Sur la Fig. E, on peut observer cet arrêt de l'attaque après les 4 ou 5 premières cellules. Les cavités « en boutonnière » se retrouvent dans le bois final.

— Traitement du bois à  $30 \text{ l/m}^3$  : après 8 semaines d'exposition, de rares filaments accompagnés de cavités très peu nombreuses sont encore visibles au bord des coupes. A 12 semaines, l'attaque n'a pas eu lieu pour autant et l'on constate encore dans les cellules du parenchyme des rayons des cristaux, plus

---

Fig. D — Formation de cavités allongées et profondes dans le bois final après 12 semaines d'exposition à *Coniophora puteana* des échantillons traités au benzène (MEB). Fig. E — Arrêt de l'altération par *Coniophora puteana* après les 4 premières rangées de cellules des échantillons traités à  $20 \text{ l/m}^3$  (MO). Fig. F — A la concentration de  $30 \text{ l/m}^3$ , mélange dans un rayon des cristaux issus de *Coniophora puteana* et d'autres formations cristallines de nature inconnue (MEB).

Fig. D — Formation of elongated and deep cavities in late wood after 12 weeks of exposure to *Coniophora puteana* of samples treated with benzene (SEM). Fig. E — Stop of decay by *Coniophora puteana* after the 4 first cells of samples treated to  $20 \text{ l/m}^3$  (LM). Fig. F — With the  $30 \text{ l/m}^3$  concentration, mixing in a ray of fungic crystals and other crystal-line unknown formations (SEM).



particulièrement dans les ponctuations simples très larges chez le pin sylvestre (Fig. F).

Ces cristaux octaédriques, typiques de *Coniophora puteana* sont intimement liés à d'autres formations d'aspect cristallin, elles n'ont jamais été observées normalement dans les rayons du pin sylvestre et l'on peut supposer qu'elles proviennent du produit de traitement qui, appliqué à une certaine dose, se déposerait. En ce qui concerne le comportement du champignon, la présence de ces formations cristallines ne semble pas l'empêcher de produire ses propres cristaux (Fig. F).

A ce stade la protection apportée au bois semble effective, en relation avec les taux de pertes de masse obtenus. Cette concentration de produit appliquée peut être considérée, pour la taille des échantillons utilisés et la durée de l'exposition, comme correspondant au seuil d'efficacité reconnu ( $40 \text{ l/m}^3$ ) selon la norme EN-113 sur des éprouvettes de taille plus importante après 16 semaines d'exposition avec ce type de produit sur *C. puteana*. Il faut donc s'attendre dans les conditions de cet essai à une protection complète avec une concentration de  $50 \text{ l/m}^3$ .

— Traitement du bois à  $50 \text{ l/m}^3$  : avec les deux périodes d'exposition, on ne constate aucune manifestation fongique. Comme à la concentration précédente, des formations cristallines probablement issues du produit chloré apparaissent en particulier dans les cellules des rayons. Elles n'ont pas du tout le même aspect que précédemment (Fig. G).

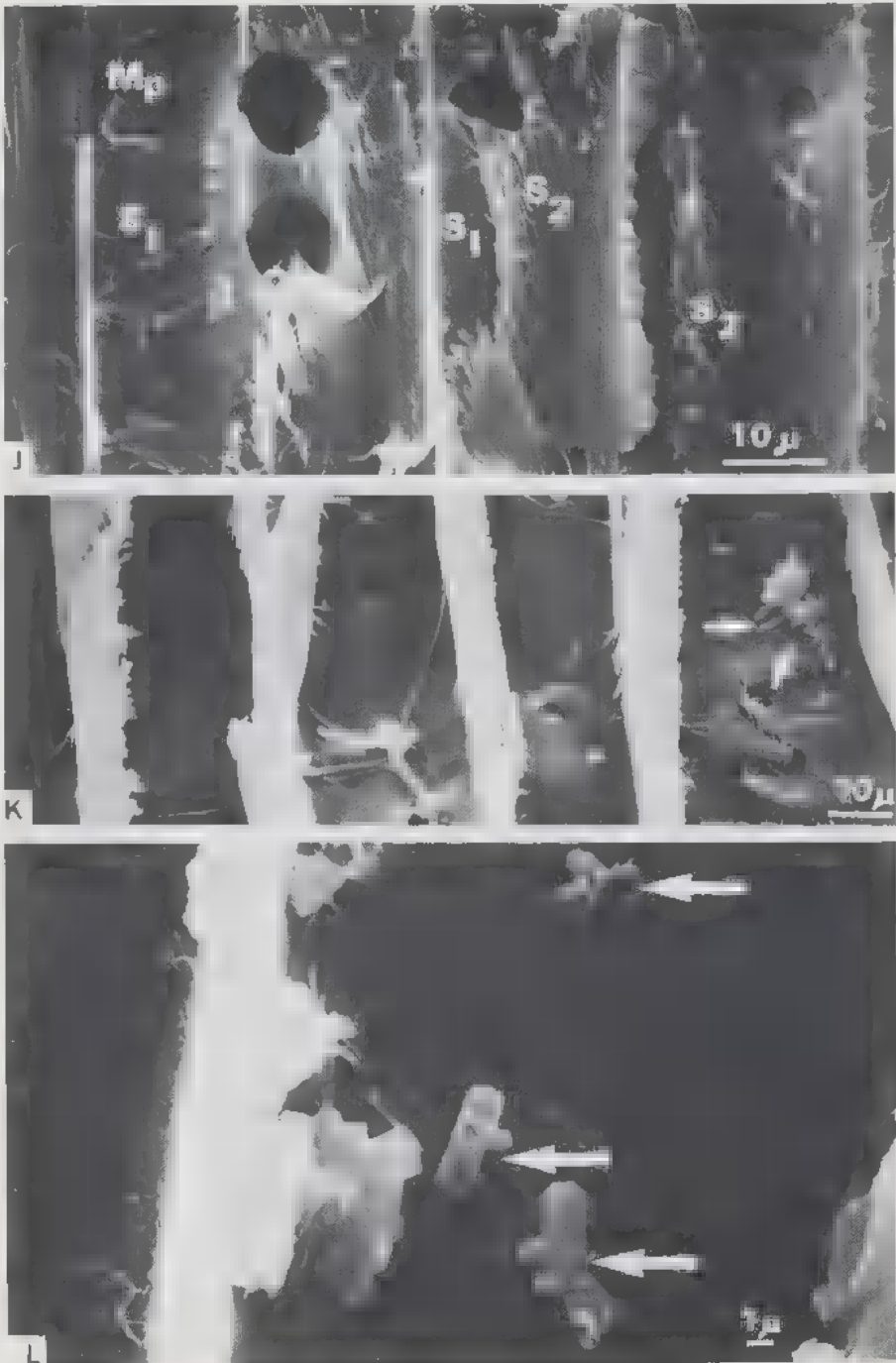
## DÉGRADATION DE L'AUBIER DE PIN SYLVESTRE PAR *TRAMETES VERSICOLOR*

### 1 - Observation des éprouvettes témoin (aucun traitement)

Les hyphes de *Trametes versicolor* ont envahi uniformément après 8 semaines d'exposition les éléments du plan ligneux du pin sylvestre. Les rayons sont très colonisés et les trachéides transversales qui les bordent sont moins dentées et montrent des perforations anormales. Dans les fibres de bois initial et de bois

Fig. G - Formations cristallines provenant de *Coniophora puteana* dans les ponctuations simples d'un rayon après traitement de  $50 \text{ l/m}^3$  (MEB). Fig. H - Portion de fibre de bois initial très perforée sur un fond de paroi délamérée. Traitement au benzène et exposition 8 semaines à *Trametes versicolor* (MEB). Fig. I - Abondance des perforations dues à *Trametes versicolor* dans les fibres de bois initial des échantillons traités à  $20 \text{ l/m}^3$  exposés 8 semaines (MEB).

Fig. G - Crystalline formations which are not issued from *Coniophora puteana* in the ray pits after treatment with  $50 \text{ l/m}^3$  (SEM). Fig. H - Part of early wood with a lot of perforations : the cell-wall is laminated. Treatment only with benzene and exposure 8 weeks to *Trametes versicolor* (SEM). Fig. I - Numerous bore-holes due to *Trametes versicolor* in early wood fibers of samples treated with  $20 \text{ l/m}^3$ , exposed during 8 weeks (SEM).



final, deux types de mycélium cohabitent : l'un est très touffu et présente des filaments extrêmement fins, l'autre ■ des hyphes plus larges. Les filaments larges sont à l'origine des trous observés dans la paroi, mais il semblerait que les filaments fins soient capables de perforer également la paroi cellulaire par émission d'ectoenzymes à l'apex. En effet, nous verrons par la suite que différents diamètres de trous sont fréquemment observés. Certaines préparations montrent également un fond de paroi « imprimé » par le filament mycélien, qui semble ainsi avoir émis ses enzymes par toute sa surface créant « des rigoles » dans la  $S_3$  ; ceci a lieu à la fois dans le bois initial et le bois final. Les formes d'altération déjà observées sur le hêtre se retrouvent dans la paroi du pin sous forme de trous « subdivisés » c'est-à-dire dans lesquels il ne reste que des « morceaux » de parois (DIROL, 1976). Les « trous » (bore-holes) sont observés en abondance à tous les niveaux dans la cellule, en microscopie optique, les punctuations aréolées semblent « évitées » ; l'emplacement du torus paraît très flou.

A ce stade, on peut remarquer par endroits une attaque moins importante du bois final, sa plus grande richesse en cellulose ( $S_2$ ) en serait la cause. Cependant, après 12 semaines, les deux types de bois sont également atteint ce qui semble logique car *Trametes versicolor*, bien qu'étant un agent de pourriture fibreuse capable de dégrader la lignine, peut dégrader simultanément la cellulose (DIROL, 1976).

Après cette période la paroi est très fragilisée du fait du départ des constituants depuis le lumen (DIROL, 1976), les punctuations très dégradées deviennent jointives et forment des lignes de rupture dans la fibre ; au niveau des rayons, les trachéides transversales et le parenchyme sont très désorganisés et certains éléments sont à l'état d'ébauche ou de « moignons » dans les champs de croisement.

## 2 - Observation des éprouvettes uniquement traitées par le solvant (benzène)

L'action du solvant seul n'entraîne pas de modifications profondes si ce n'est une uniformisation de l'altération : trous de différents diamètres mieux répartis sur un fond de paroi délaminiée (Fig. H). Après 12 semaines, le bois est fragilisé et des fissures apparaissent.

Fig. J - Délamination irrégulière des parois après 12 semaines d'attaque par *Trametes versicolor* malgré un traitement à  $20 \text{ l/m}^3$  (MEB). (MP : membrane primaire ;  $S_1$  et  $S_2$  : couches de la membrane secondaire). Fig. K - Bois traité à  $50 \text{ l/m}^3$  ; les hyphes et les perforations de *Trametes versicolor* sont encore nombreuses à côté de formations cristallines (MEB). Fig. L - Formation cristallines sur le fond des parois dans le bois traité à  $50 \text{ l/m}^3$  et exposé 8 semaines à *Trametes versicolor* (MEB).

Fig. J - Irregular delamination of cell-walls after 12 weeks exposure to *Trametes versicolor* in spite of a  $20 \text{ l/m}^3$  treatment (SEM). (MP : primary wall ;  $S_1$  and  $S_2$  : layers of the secondary wall). Fig. K - Treated wood with  $50 \text{ l/m}^3$  ; hyphae and bore-holes due to *Trametes versicolor* are yet numerous inside crystalline formations (SEM). Fig. L - Crystalline formations on cell walls of  $50 \text{ l/m}^3$  treated wood exposed during 8 weeks to *Trametes versicolor* (SEM).

### 3 - Observation de la régression d'attaque après traitement par le produit de préservation chloré

— Traitement du bois à  $20 \text{ l/m}^3$  : les échantillons observés après 8 semaines d'exposition montrent par endroits d'importantes plages altérées, les hyphes sont encore présentes et perforent la paroi sous-jacente, avec parfois une intensité plus grande que chez les témoins, donnant à penser à un effet stimulateur (Fig. I).

Pourtant, des plages entières de bois envahi et dégradé voisinent avec des plages exemptes de toute attaque et où aucune hyphe n'est présente. De même, une importante différence d'attaque est observable entre le bois initial et le bois final où peu d'hyphes sont visibles. Toutefois, malgré la présence de plages intactes dans le plan ligneux, les fibres ou amas de fibres attaquées le sont de manière conséquente.

Après une exposition de 12 semaines, le phénomène constaté précédemment est accentué, les filaments mycéliens sont toujours concentrés dans certaines fibres.

La microscopie électronique à balayage montre que le bois final est également dégradé puisque différentes couches ont disparu irrégulièrement (Fig. J). Ainsi, sur le pin, les effets de ce champignon sont les mêmes que ceux observés sur le hêtre (DIROL, 1976), c'est-à-dire un amincissement de la paroi ligneuse depuis la lumière de la cellule.

— Traitement du bois à  $30 \text{ l/m}^3$  : l'examen du plan ligneux montre encore après 8 semaines d'exposition, la présence de nombreux filaments mycéliens groupés dans certaines fibres parfois sous forme de « touffes ». Dans l'ensemble les perforations sont moins nombreuses mais, comme pour la concentration précédente, se trouvent groupées en amas. Certaines fibres, par contre, paraissent indemnes. Après une exposition de 3 mois, on ne constate pas d'altération plus importante; des plages de « trous » sont encore visibles sur un fond de paroi abîmé.

— Traitement du bois à  $50 \text{ l/m}^3$  : cette dose plus importante de produit entraîne, après 11 semaines, une légère diminution du nombre de perforations. Cependant, on les trouve encore associées aux hyphes (Fig. K). A cette concentration apparaissent des formations cristallines sous forme d'amas et de bâtonnets rappelant celles observées précédemment avec *Coniophora puteana* (Fig. L et M). Ce champignon ne formant pas de cristaux habituellement, ces formations ne seraient pas d'origine fongique mais seraient plutôt issues du produit de préservation appliqué. Cependant, comme on peut le voir sur la Fig. M, elles ne semblent pas entraver l'action de destruction du champignon puisqu'elles jouxtent une hyphe et deux perforations de nature fongique.

Le fait d'observer, dans le bois traité aux doses précédentes, des plages d'attaques et des zones intactes laisse supposer une diffusion très irrégulière du fongicide. Par contre, l'observation simultanée de l'hyphe du champignon, des trous créés par son action enzymatique à proximité des cristaux d'origine





Fig. M - Hyphae créatrices de perforations et formations cristallines non fongiques dans le bois traité à 50 l/m<sup>3</sup> exposé 8 semaines à *Trametes versicolor* (MEB). Fig. N - Hyphae de *Trametes versicolor* dégénérantes dans le bois traité à 50 l/m<sup>3</sup> et exposé pendant 12 semaines (MEB).

Fig. M - Hyphae making bore-holes and non fungic crystalline formations in 50 l/m<sup>3</sup> treated wood exposed to *Trametes versicolor* during 8 weeks (SEM). Fig. N - Degenerating hyphae of *Trametes versicolor* in 50 l/m<sup>3</sup> treated wood exposed during 12 weeks (SEM).

«chimique» donne à penser que *T. versicolor* offre une résistance à l'action du produit. Celle-ci est peut-être limitée car, après 12 semaines d'exposition, bien qu'il y ait des plages très attaquées et des fibres avec des hyphes en grande quantité, certaines ont des filaments présentant des interruptions qu'une préparation particulière par point critique ne pourrait compenser. Il s'agit plutôt d'une dégénérescence, bien visible sur la Fig. N. Ces débris d'hyphes n'avaient pas été observés aux concentrations précédentes.

## DISCUSSION

Le fait important apparu après ces observations consiste en la présence à partir d'une certaine dose de produit ( $30 \text{ l/m}^3$  avec *Coniophora puteana* et  $50 \text{ l/m}^3$  avec *Trametes versicolor*) de formations cristallines d'aspect varié dans les rayons et les fibres du bois. Ces formations ne semblent pas, pour *T. versicolor* en particulier, gêner l'action du champignon et le problème de leur nature chimique demande à être étudié. Il n'est pas évident que les cristaux observés soient constitués de pentachlorophénol, matière active fongicide très efficace. A partir d'une certaine concentration du produit (dont on sait qu'il est constitué de pesticides et de fixateurs qui sont souvent des polymères synthétiques ou naturels à résines) il pourrait y avoir des formations particulières — résines par exemple cristallisées ou bien mélange PCP-résine dans lequel le PCP englobé dans le polymère n'aurait plus d'efficacité vis-à-vis du champignon. Cette dernière hypothèse reste à vérifier dans des bois traités à des doses élevées de produit pour lesquelles les solutions saturées trop riches déposeraient sans avoir d'action fongicide. La résistance bien connue de *T. versicolor* aux doses pourtant létales pour les autres champignons de pourriture cubique pourrait donc s'expliquer. Quoi qu'il en soit, l'observation au microscope électronique à balayage d'une goutte du produit de préservation chloré après séchage n'a pas du tout révélé la formation de cristaux comparables puisqu'il s'agit plutôt d'une formation amorphe; ainsi la cristallisation n'a peut être lieu qu'à l'intérieur du bois.

## CONCLUSION

Le comportement des deux types de champignons étudiés par des observations microscopiques ne diffère en rien de celui constaté maintes fois avec les 4 champignons de la Norme EN-113 lors d'étude des seuils d'efficacité des produits de préservation à base de pentachlorophénol. Le champignon de pourriture cubique constaté très virulent sur du bois non traité devient rapidement «amoindri» avec une faible concentration de produit; il faudrait des doses minimales pour étudier une vraie confrontation produit-champignons. Il est certain que tout bois traité à raison de  $40 \text{ l/m}^3$  sera protégé efficacement contre les champignons de pourriture cubique; c'est d'ailleurs ce qui est conseillé dans la pratique. En ce qui concerne *Trametes versicolor* les concentrations étudiées dans le cas présent

sont tout à fait inefficace et une réelle confrontation n'a lieu qu'à des doses supérieures à 50 l/m<sup>3</sup>. Cette remarque corrobore les résultats toujours semblables, obtenus avec du hêtre, dans l'étude des seuils d'efficacité des produits chlorés; le seuil est toujours très élevé, pratiquement égal à 250 l/m<sup>3</sup>.

Le problème de l'association hêtre - *Trametes versicolor* soulevé de nombreuses fois lors des résultats des essais de seuils, en particulier à l'échelle européenne, s'étend à l'association Pin sylvestre - *Trametes versicolor*. Dans le cas présent on ne connaît pas les valeurs du seuil d'efficacité sur le pin mais d'après cette étude, on peut supposer qu'elles sont également élevées. Le problème ne serait donc pas comme on le pensait fortement lié à l'essence de bois mais au champignon lui-même. Cependant, l'observation dans cette étude de formations cristallines à partir de 50 l/m<sup>3</sup> dans les deux cas donne à penser que le comportement même du produit de préservation au niveau de la paroi cellulaire peut amener des changements dans la virulence du champignon. Il serait donc intéressant de connaître la nature exacte des formations cristallines et leur fréquence à partir d'une certaine concentration. Il semble en effet que le rôle du fongicide ne soit pas négligeable car, en observant les pertes de masse obtenues sur les échantillons témoins *Trametes versicolor* ne montre pas une virulence importante (10 % à 8 semaines) par rapport à *Coniophora puteana* (51 %); et pourtant il provoque toujours des dégradations de la paroi à 50 l/m<sup>3</sup> alors que *C. puteana* a autant dire déjà disparu à 30 l/m<sup>3</sup>.

#### REMERCIEMENTS :

L'auteur remercie Françoise THOMASSIN pour sa collaboration technique (Microscopie électronique à balayage).

#### BIBLIOGRAPHIE

- ASSOCIATION FRANÇAISE DE NORMALISATION, 1980 - Produit de préservation du bois. Détermination du seuil de l'efficacité contre les champignons basidiomycètes lignivores cultivés sur milieu gélosé. NF X 41 - 552 (EN-113).
- DIROL D., 1976 - Étude *in vitro* de la colonisation et de la dégradation structurale du bois par *Coriolus versicolor* (L.). *Rev. Mycol. (Paris)* 40 : 295-317.
- DIROL D., 1978 - Étude *in vitro* de la colonisation et de la dégradation structurale du bois d'aubier de Pin sylvestre par la Mérule *Serpula lacrymans* (Schum. ex Fr.) S.F. Gray. *Rev. Mycol. (Paris)* 42 : 277-292.
- DIROL D., 1986 - Investigation on different variation factors in the results of mycological test and means to reduce and avoid them. The International Research group on Wood Preservation. Document n° IRG/WP/2264, Stockholm, IRG Secretariat, 1.14.
- HIGHLEY T.L. and MURMANIS L.L., 1984 - Ultrastructural aspects of cellulose decomposition by white-rot fungi. *Holzforschung* 36 : 73-78.
- KARRIK A., 1978 - Monographic Card *Coniophora puteana* (Schum. ex Fr.) Karst. The

- International Research Group on Wood Preservation. Document n° IRG/WP/171. Stockholm, IRG Secretariat, 1.14.
- LIESE W., 1970 — Ultrastructural aspects of woody tissue disintegration. *Annual Rev. Phytopathol.* 8 : 231-258.
- NOBLES M.K., 1948 — Studies in forest pathology. VI. Identification of cultures of wood rotting fungi. *Canad. J. Res., Sect. C., Bot. Sci.* 26 : 281-431.
- PARAMESWARAN N. and LIESE W., 1982 — Ultrastructural localization of wall components in wood cells. *Holz Roh Werkstoff* 40 : 145-155.
- RUEL K., BARNOUD F. and ERIKSSON K.E., 1981 — Micromorphological and ultrastructural Aspects of Spruce Wood Degradation by wild-Type *Sporotrichum pulverulentum* and its cellulose - less Mutant cel 44. *Holzforschung* 35 : 157-171.
- WILCOX W.W., 1970 — Anatomical changes in wood cell walls attacked by fungi and bacteria. *Bot. Rev. (Lancaster)* 36 : 1-28.
- WILCOX W., PARAMESWARAN N. and LIESE W., 1974 — Ultrastructure of brown rot in wood treated with pentachlorophenol. *Holzforschung* 28 : 211-217.
- ZICHERMAN J.B., 1975 — SEM X-Ray analysis of PCP in treated wood. *Wood & Fiber* 7 : 110-118.

ÉTUDE ONTOGÉNIQUE ET STRUCTURALE  
DES PÉRITHÈCES DU *DICTYOTRICHIELLA SEMIIMMERSA*  
CANDOUSSAU ET SULMONT  
(PYRÉNOMYCÈTES, HERPOTRICHIELLACEAE)

par M. C. JANEX-FAVRE\*

RESUMÉ. — Les périthèces du *Dictyotrichiella semiimmersa*, Pyrénomycète de position systématique incertaine, présentent un développement de type ascoloculaire, mais avec des particularités originales. Leur locule, classiquement entourée d'une garniture composée d'une cloche sus-hyméniale et d'un ménisque sous-hyménial, est en effet garnie de filaments rayonnants qui, bien qu'homologues de pseudo-paraphyses et de paraphyses, demeurent courts au lieu de s'allonger pour former des filaments interascaux. Ces faits rappellent ceux observés chez les Verrucariales. La notion de périphysoïdes (BARR, 1979) est discutée.

SUMMARY. — In *Dictyotrichiella semiimmersa*, whose systematic position is controversial, perithecia follow the ascolocular pattern of development; they however display original features. The perilocular layer is complete, both of its constituents parts (suprahymenial bell and subhymenial disc) produce towards the centre of the locule radiate filaments which remain short thus forming no true interascal pseudoparaphyses and paraphyses. Such observations recall the case of Verrucariales. The concept of periphysoid (BARR, 1979) is discussed.

MOTS CLÉS : périthèce, ascoloculaire, périphysoïde, *Dictyotrichiella*.

Le *Dictyotrichiella semiimmersa* Candoussau et Sulmont est un petit Pyrénomycète lignicole, bien caractérisé par ses périthèces brun foncé ne dépassant pas 180 µm de diamètre, hérissés de poils peu nombreux, ses asques oblongs bitunikés et ses ascospores gris olivacé fusiformes septées (3 à 5 septa transversaux, 1 à 2 septa longitudinaux dans les cellules médianes).

Créé par MUNK (1953) et alors monospécifique, le genre *Dictyotrichiella* est inclus dans la famille des Herpotrichiellaceae, définie en même temps, à partir de critères morphologiques (en particulier périthèces portant des poils épars, ascospores bistre-olivâtre septées) et écologiques (sur bois pourri ou restes d'autres Champignons). Six espèces ont été reconnues dans le genre *Dictyo-*

\* Laboratoire de Cryptogamie, Université Pierre et Marie Curie - 9, Quai Saint-Bernard - 75252 Paris Cedex 05.

*trichiella*, leur distinction étant également fondée sur des critères morphologiques (dimensions et mode de cloisonnement des ascospores notamment) et écologiques. Tout récemment, MÜLLER & al. (1987) rejettent le genre *Dictyotrichiella*, l'incluant dans le genre *Capronia* Sacc. dont l'acception est fortement élargie.

La position systématique des Herpotrichiellaceae découle du mode d'organisation de leurs périthèces et de leurs asques. En les décrivant, MUNK (1953, puis 1957) les place parmi les Ascoloculaires du fait de l'absence de tissu interascal et de l'épaisseur de la paroi ascale. MÜLLER & von ARX (1962), puis LUTTRELL (1973) rejettent cette famille des Herpotrichiellaceae et rattachent aux Pleosporaceae les genres qui la composent. BARR conserve la famille mais en la révisant, la place d'abord dans les Dothidéales (1972) puis dans les Chaetothyriales (1976a, 1979); cet ordre, joint aux Verrucariales (lichénisées ou parasites de Lichens) forme la sous-classe des Loculoanoteromycetidae, Loculoascomycètes caractérisés par la production dans leur ascocarpe périthécioïde, de «pseudoparaphyses latérales (= apicales) courtes», pour lesquelles est introduit le terme de «périphysoïdes» (BARR, 1979). Du fait de l'hétérogénéité apparente de ces «périphysoïdes» BARR, dans la classification proposée en 1983, supprime la sous-classe réunissant Chaetothyriales et Verrucariales et place ces deux ordres auprès des Pléosporales dans la sous-classe des Loculoedaphomycetidae. Von ARX & MÜLLER (1975), ERIKSSON (1981 à 1984) puis ERIKSSON & HAWKSWORTH, 1985, 1986a-b) retiennent également la famille des Herpotrichiellaceae et l'incluent dans l'ordre, très vaste, des Dothidéales; dans la subdivision de cet ordre qu'ils proposent en 1987 (a-b), les Herpotrichiellaceae forment avec les Microtheliopsidaceae le sous-ordre provisoire des Herpotrichiellineae.

Afin de mieux apprécier la position systématique des Herpotrichiellaceae et l'intérêt de leur rapprochement avec les Verrucariales, dont nous avons nous-même étudié plusieurs représentants lichénisés (JANEX-FAVRE, 1970, 1975; ROUX & al., 1986), il nous a paru intéressant d'en préciser les caractères ontogéniques et structuraux.

L'étude du *Dictyotrichiella semimmersa*, dont nous présentons ici les premiers résultats, ■ été réalisée sur des échantillons provenant de deux récoltes successives. La première, effectuée en 1971 par CANDOUSSAU & SULMONT sur un tronc de peuplier coupé et dénudé, avait permis à ces auteurs la description de l'espèce (CANDOUSSAU & SULMONT, 1971); grâce à leur obligeance, des échantillons ont pu être prélevés, fixés et conservés dans le laboratoire du Professeur Marius CHADEFAUD où il nous ont été confiés. La deuxième récolte est due à notre amie Agnès PARGUEY, qui ■ retrouvé cette petite espèce en Franche-Comté, en 1986, sur des troncs de chênes coupés et écorcés. Pour l'étude du développement des périthèces, qui fait l'objet de cet article, ont été utilisées : 1) des préparations par écrasement, colorées par le bleu Coton ou l'encre stylographique, qui ont permis d'observer la formation des primordiums, et 2) des coupes sériées, obtenues et traitées selon les méthodes classiques (épaisseur : 5 µm, coloration : hématoxyline-éosine) après fixation par le liquide



de WESTBROOK et inclusion dans la paraffine; ces coupes ont été nécessaires pour analyser la structure interne du primordium et sa transformation en ébauche périthéciale, puis en périthèce.

## RÉSULTATS

### Les stades du développement périthécial

Avant toute description, il nous faut indiquer que la localisation des ascarpes était différente dans les deux récoltes de *Dictyotrichiella semimmersa* : localisation superficielle, sans pénétration du substrat, pour les échantillons prélevés sur troncs de chênes et localisation essentiellement intracellulaire pour ceux récoltés sur bois de peuplier; dans ce dernier cas, le bois était à nu et donc plus aisément pénétrable que le précédent, recouvert d'une écorce liégeuse.

#### 1) Le primordium.

Le début de sa formation est indiqué par la présence, sur un filament mycélien, en position intercalaire (Fig. 1, A) ou terminale (Fig. 1, B) de quelques

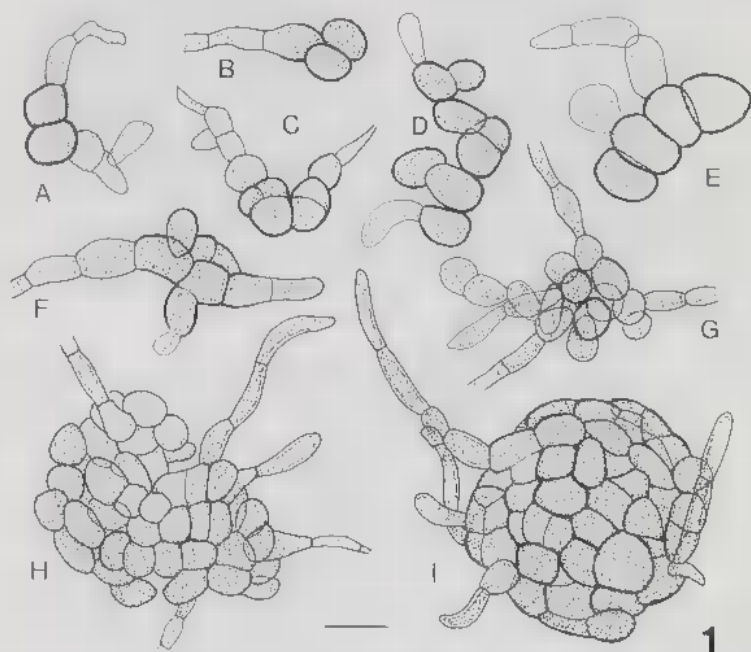


Fig. 1 — Le primordium, de type stromato-glomérulaire. A à I : stades successifs (voir le texte). Échelle : 10  $\mu$ m.

Fig. 1 — Primordium, of stromatic-glomerule structural type. A to I : successive stages (see in text). Scale : 10  $\mu$ m.

cellules contiguës dilatées, à paroi brune et cytoplasme dense. Certaines d'entre elles se divisent, transversalement ou longitudinalement (Fig. 1, C et D); elles peuvent également produire par une sorte de bourgeonnement des cellules nouvelles qui, à leur tour, deviennent arrondies et brunes (Fig. 1, D, E et F). Progressivement s'édifie ainsi un nodule saillant (Fig. 1, G), qui demeure en relation avec le mycélium et constitue un primordium de type stromato-glomérulaire (cf. PARGUEY-LEDUC, 1966-67). Celui-ci se complique et grossit (Fig. 1, H), puis il devient globuleux et sa surface se régularise (Fig. 1, I) : ses cellules superficielles peuvent demeurer en rapport avec le mycélium originel ou porter de courts filaments pluricellulaires libres, produits secondairement.

En coupe (Fig. 2), le primordium présente une structure paraplectenchymateuse, les parois des cellules externes étant beaucoup plus épaisses et fortement pigmentées que celles des cellules internes.

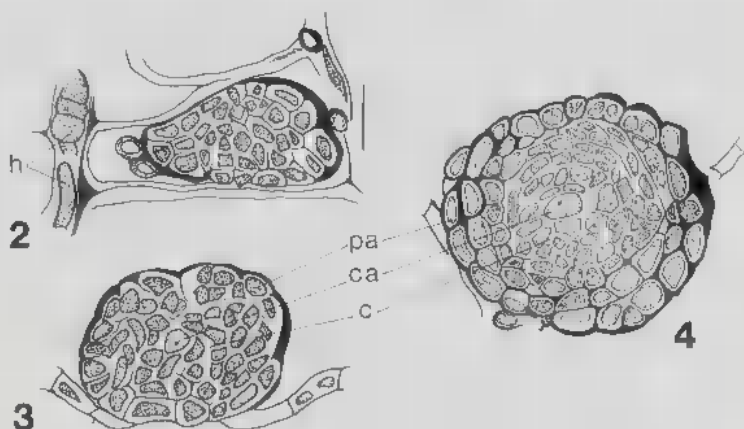


Fig. 2 à 4 — Le primordium et la jeune ébauche périthéciale. 2 : primordium intracellulaire; 3 et 4 : jeunes ébauches périthéciales développées superficiellement; différenciation progressive du carpocentre c, contenant des cellules ascogoniales ca et de la paroi périthéciale pa. h : hyphe intracellulaire. Échelle : 10  $\mu$ m.

Fig. 2 to 4 — Primordium and young perithecial bud. 2 : intracellular primordium; 3 and 4 : superficial young perithecial buds with differentiating carpocenter c (ca : ascogonial cells) and perithecial wall pa. h : intracellular hypha. Scale : 10  $\mu$ m.

2) L'ébauche périthéciale est caractérisée par la formation d'un carpocentre, d'abord homogène, puis subdivisé en plusieurs parties distinctes.

— différenciation du carpocentre proprement dit :

La jeune ébauche périthéciale (Fig. 3 et 4) comprend tout d'abord une paroi (pa) issue de la périphérie du primordium et un carpocentre (c) dérivant de ses cellules internes et dans lequel s'individualisent progressivement des cellules ascogoniales (ca), relativement grosses et à noyau distinct; autour de celles-ci,

les cellules carpocentrales externes tendent à se disposer en couches concentriques, notamment dans la moitié supérieure de l'ébauche (Fig. 4).

— différenciation de la garniture périloculaire :

La partie périphérique du carpocentre s'épaissit, surtout au sommet où les cellules sont particulièrement chromophiles (Fig. 5). Ensuite, tandis qu'une cavité (v) apparaît au centre, autour des cellules ascogoniales (ca) (plus nombreuses que précédemment), elle s'organise en une garniture périloculaire. Ce processus commence dans la partie supérieure et se poursuit ensuite le long des flancs, en direction de la base de l'ébauche. Ainsi, au stade représenté par la figure 6, l'ébauche comporte une volumineuse cloche sus-hyméniale (cl) qui s'amincit progressivement vers le bas, en s'appliquant sur les bords d'un ménisque sous-hyménial encore mal individualisé, et porte des pseudo-paraphyses (q) disposées radialement. Cette disposition n'est pas habituelle : en règle générale, rappelons-le, la cloche sus-hyméniale ne se prolonge pas aussi loin latéralement et en conséquence elle ne produit que des filaments pendants à orientation verticale.

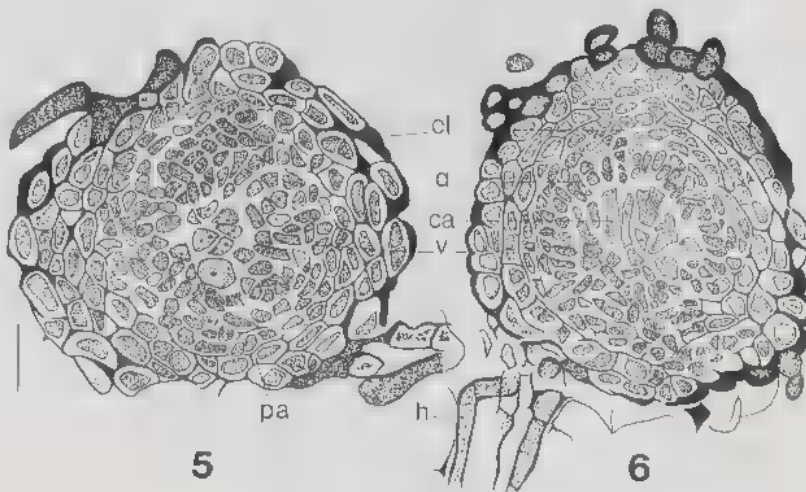


Fig. 5 et 6 — Ébauche périthéciale : formation de la cavité périthéciale v autour des cellules ascogoniales ca et différenciation de la garniture périloculaire comportant la cloche sus-hyméniale cl bien individualisée porteuse de pseudo-paraphyses q; h : hyphe intracellulaire; pa : paroi périthéciale, garnie de poils. Echelle : 10  $\mu$ m.

Fig. 5 and 6 — Perithecial bud : formation of a perithecial locule v around ascogonial cells ca and differentiation of a perilocular layer with suprahymenial bell cl producing pseudo-paraphyses q; h : intracellular hypha; pa : perithecial hairy wall. Scale : 10  $\mu$ m.

— différenciation de l'appareil ostiolaire :

L'ébauche périthéciale s'accroît en volume, en toutes directions mais plus fortement dans le sens de la hauteur (Fig. 7 et 8). Le locule devient ainsi ellip-

soïdale. Les cellules fertiles (f), dérivées des cellules ascogoniales, qui en occupent le centre sont uni- ou plurinucléées; leurs interrelations ne sont pas décelables sur les coupes. Les filaments radiaires garnissent le pourtour de la cavité; à la base, le ménisque sous-hyménial n'est toujours pas nettement individualisé. La

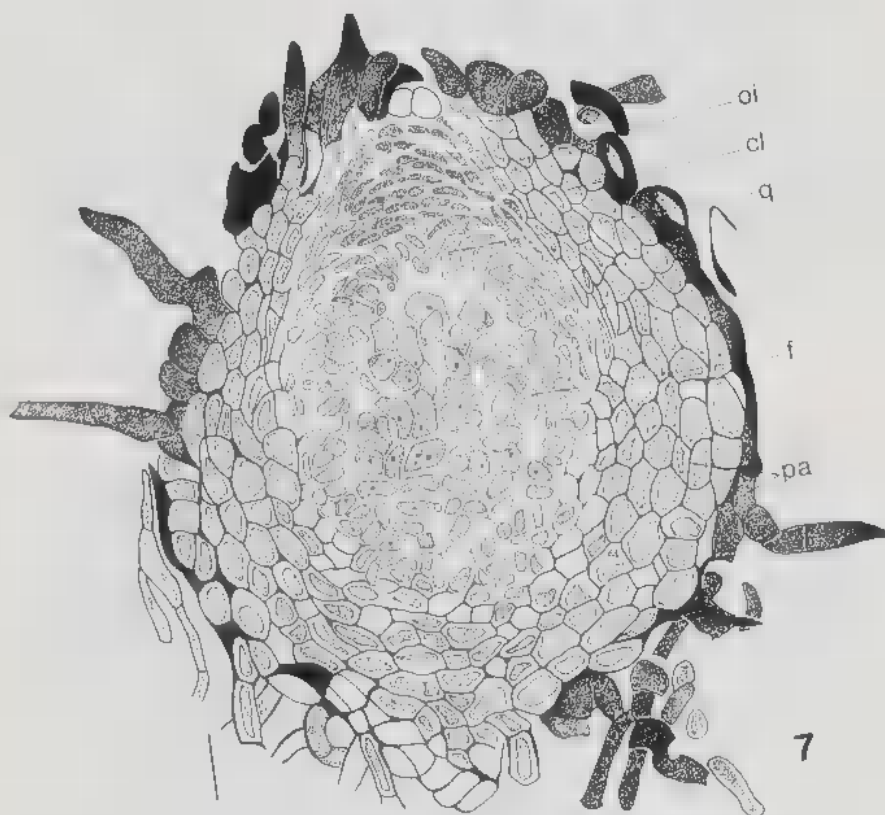
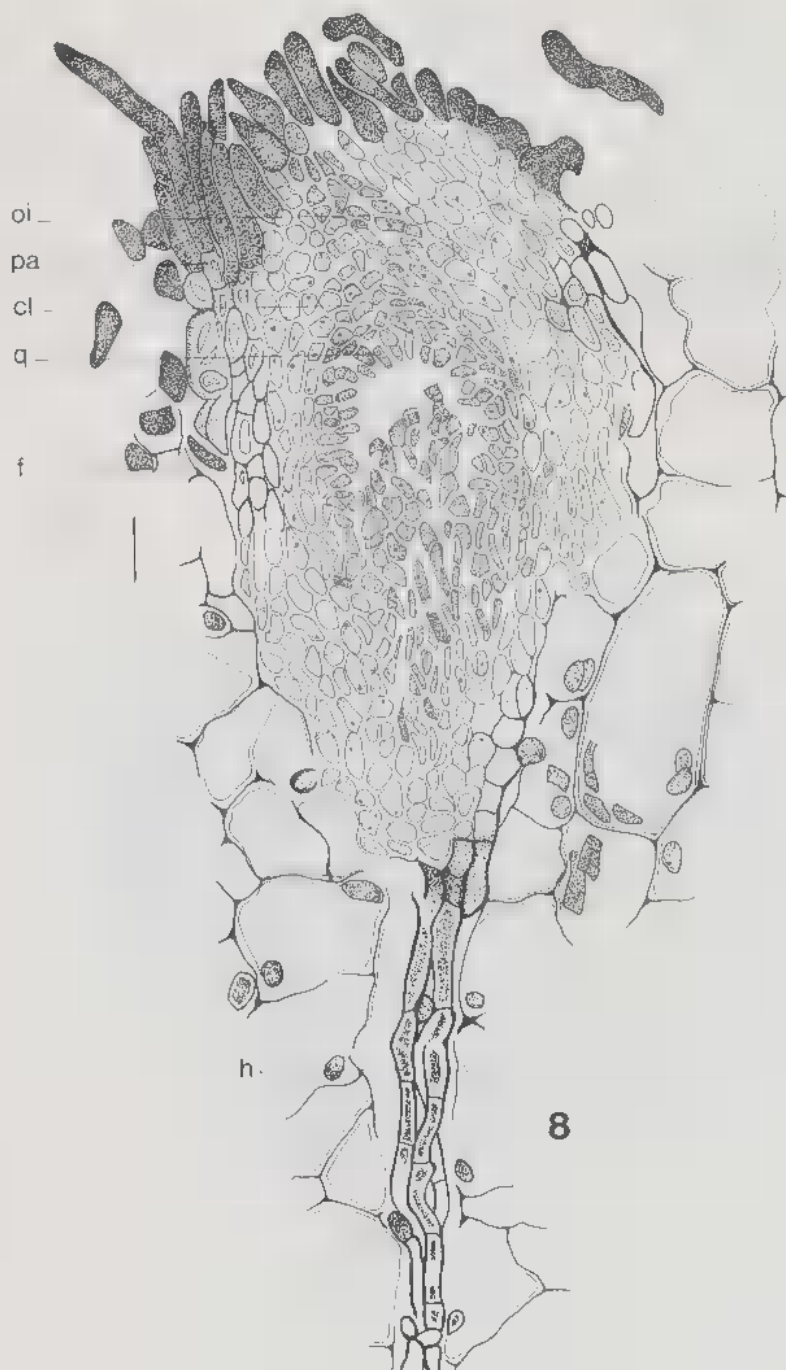


Fig. 7 — Ébauche périthéciale : différenciation de l'appareil ostiolaire oi à partir du sommet de la cloche sus-hyméniale cl. f : cellule fertile; pa : paroi périthéciale; q : pseudo-paraphyse. Échelle : 10  $\mu$ m.

Fig. 7 — Perithecial bud : the ostiolar apparatus oi differentiates from the top of suprahymenial bell cl. f : fertile cells; pa : perithecial hairy wall; q : pseudoparaphysis. Scale : 10  $\mu$ m.

Fig. 8 — Ébauche périthéciale : différenciation de l'appareil ostiolaire; stade identique à celui représenté par la figure 7, mais l'ébauche, développée à l'intérieur du substrat, a une forme irrégulière et s'y ancre par un faisceau d'hyphes h formant pivot. cl : cloche sus-hyméniale; f : cellules fertiles; oi : appareil ostiolaire; pa : paroi périthéciale; q : pseudo-paraphyse. Échelle : 10  $\mu$ m.

Fig. 8 — Perithecial bud with differentiating ostiolar apparatus; same stage as in figure 7, but owing to its intracellular development the bud is irregularly shaped and anchored by an hyphal strand h. cl : suprahymenial bell; f : fertile cells; oi : ostiolar apparatus; pa : perithecial hairy wall; q : pseudoparaphysis. Scale : 10  $\mu$ m.



partie sommitale de la cloche sus-hyméniale (**cl**) formée d'un empilement de files cellulaires fortement chromophiles, constitue l'ébauche de l'appareil ostiolaire (**oi**) au centre duquel s'ouvrira l'ostiole.

La paroi périthéciale (**pa**) s'est épaissie; les couches cellulaires internes ont des parois plus minces que les couches externes; la couche superficielle est en relation avec les filaments mycéliens et porte des poils, généralement unicellulaires, à extrémité effilée en pointe et entièrement bruns; ceux-ci sont plus nombreux et dressés autour de l'appareil ostiolaire.

L'ébauche périthéciale représentée par la figure 8, parvenue au même stade que celle qui vient d'être décrite, s'en distingue par son développement intracellulaire et par sa relation bien visible à la base avec un faisceau d'hyphes mycé-

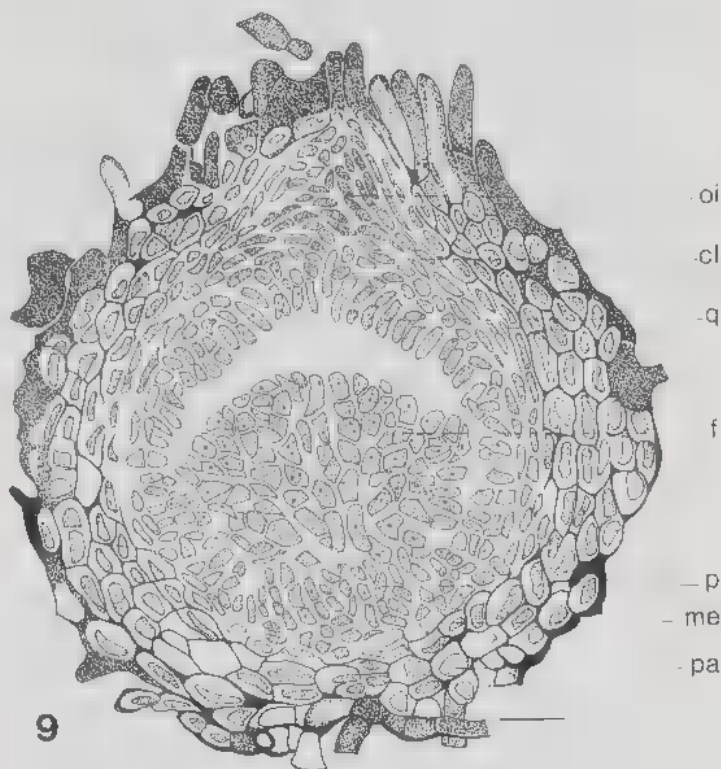


Fig. 9 — Ébauche périthéciale : le stade du dôme sporophytique composé de cellules fertiles **f** disposées en files. **cl** : cloche sus-hyméniale productrice de pseudo-paraphyses **q** et de l'appareil ostiolaire **oi**; **me** : ménisque sous-hyménial porteur de courts filaments radiaires **p**; **pa** : paroi périthéciale. Echelle : 10  $\mu$ m.

Fig. 9 — Perithecial bud : locale filled with sporophytic elements. **cl** : suprahymenial bell producing pseudoparaphyses **q** and the ostiolar apparatus **oi**; **me** : subhymenial disc, with short radiate filaments **p**; **pa** : perithecial wall. Scale : 10  $\mu$ m.



liennes qui, développé dans un rayon ligneux, constitue une sorte de pivot d'ancrage dans le substrat. De plus, sa paroi est demeurée mince et peu différenciée à l'intérieur du substrat, qui semble ainsi se substituer partiellement à la paroi dans sa fonction de protection; seule la partie superficielle, comprenant les poils péri-ostiolaires, est bien formée.

— le stade du dôme sporophytique :

Dans l'ébauche un peu plus avancée (Fig. 9), le changement essentiel concerne les éléments fertiles (f) qui apparaissent alors disposés en un dôme régulier composé de files de cellules uni- ou binucléées (et dans ce cas vraisemblablement dicaryotiques) relativement distinctes, divergeant en éventail à partir de la base.

La garniture périloculaire est complètement différenciée : cloche sus-hyméniale (cl) formant l'esquisse de l'appareil ostiolaire (oi) et portant des pseudo-

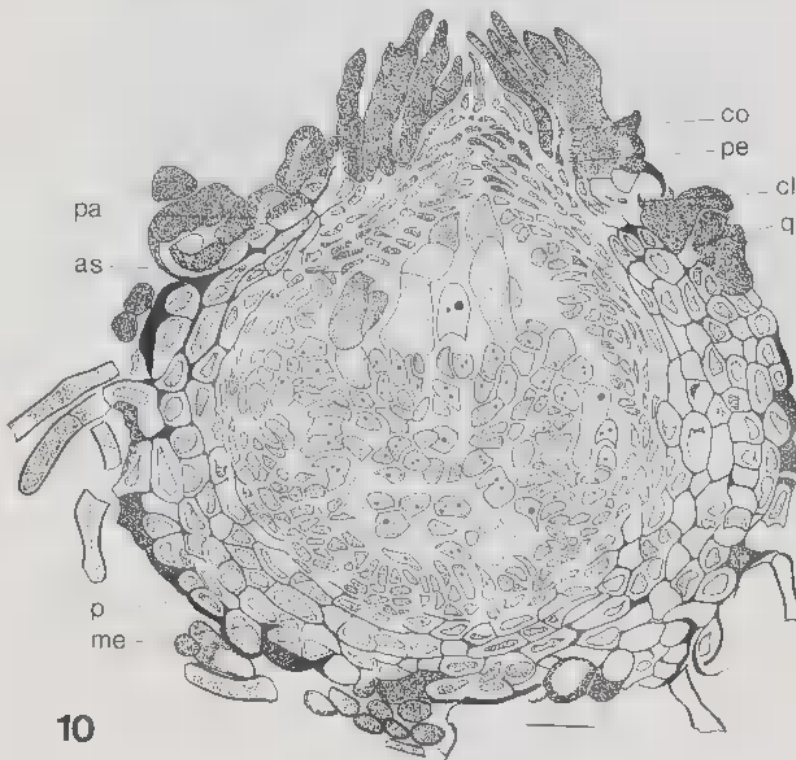


Fig. 10 — Jeune périthèce : formation des premiers asques as et individualisation du canal ostiolaire co et de ses périphyses pe. cl : cloche sus-hyméniale, avec pseudo-paraphyses q disposées obliquement; me : ménisque sous-hyménial et ses filaments p; pa : paroi périthéciale. Echelle : 10  $\mu$ m.

Fig. 10 — Young perithecium : asci as are formed and the ostiolar channel co differentiates. cl : suprahymenial bell with oblique pseudoparaphyses q; me : subhymenial disc with filaments p; pa : perithecial wall. Scale : 10  $\mu$ m.



paraphyses (q) implantées sur le plafond et les flancs de la locule et ménisque sous-hyménial (me); ce dernier, mince, est à son tour garni de filaments radiaires courts (p) qui ne pénètrent pas dans le dôme sporophytique et doivent représenter des paraphyses atypiques.

3) Le passage au stade adulte est indiqué essentiellement par deux faits : poursuite de la différenciation de l'appareil ostiolaire et formation des premiers asques (Fig. 10).

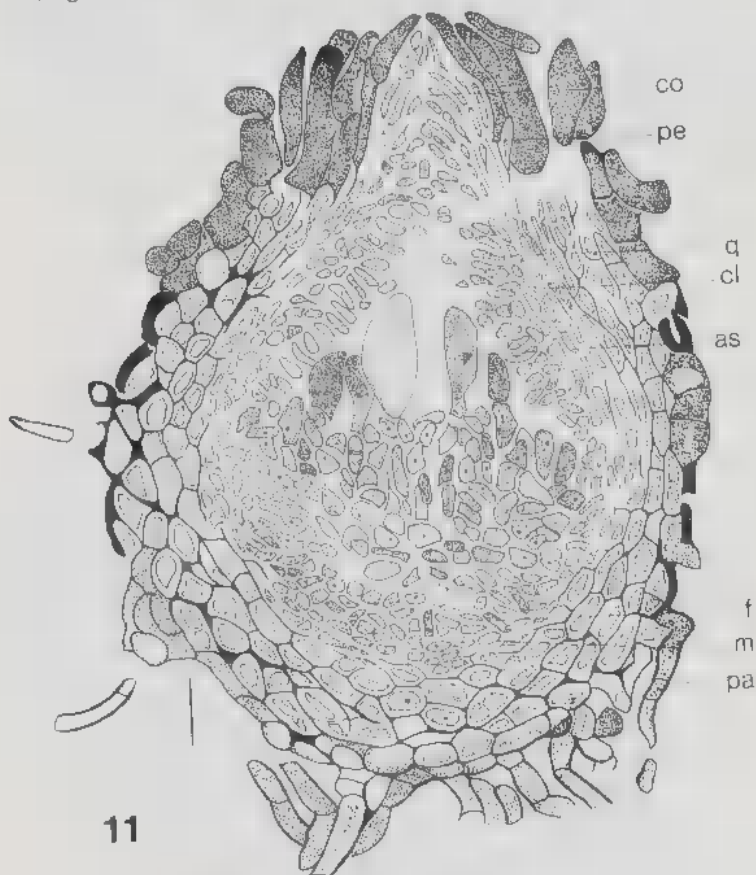
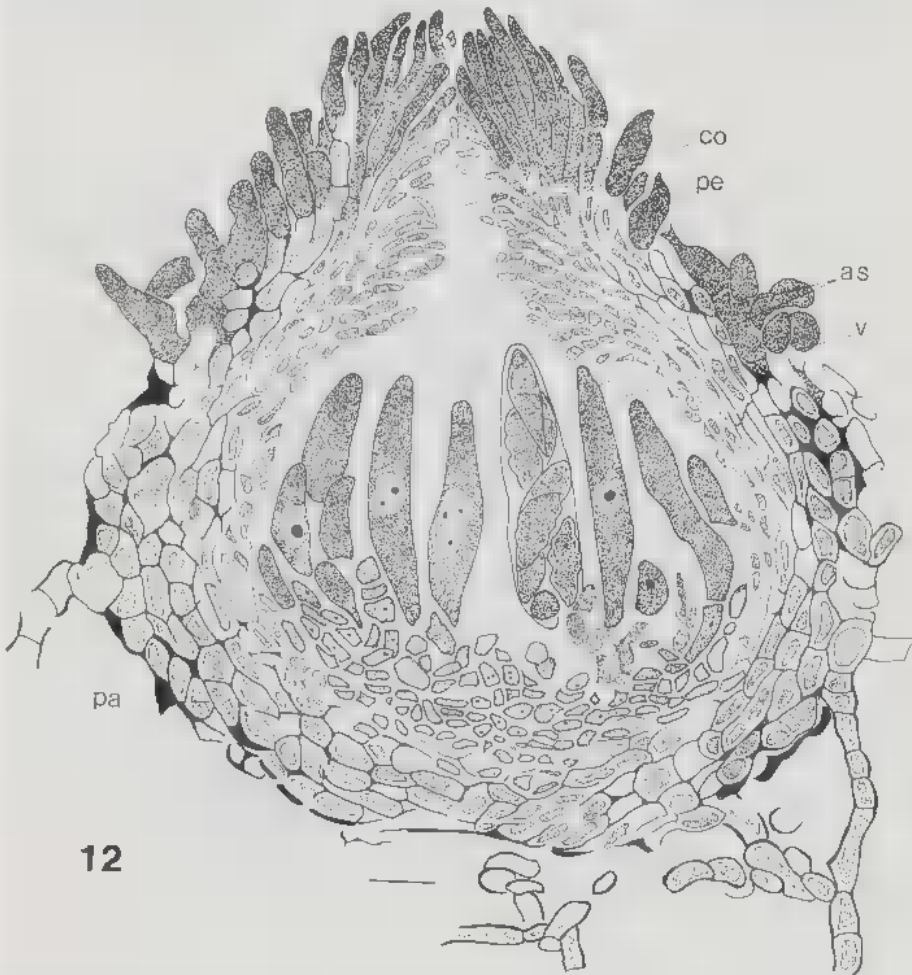


Fig. 11 – Jeune périthèce après affaissement de l'ensemble des éléments fertiles. as : asque; cl : cloche sus-hyméniale; co : canal ostiolaire; me : ménisque sous-hyménial; p : filaments du ménisque; pa : paroi périthéciale; pe : périphyse; q : pseudo-paraphyse. Echelle : 10  $\mu$ m.

Fig. 11 – Older perithecium, after collapsing of fertile parts. as : ascus; cl : suprahymenial bell; co : ostiolar channel; me : subhymenial disc; p : filament of the disc; pa : perithecial wall; pe : periphysis; q : pseudoparaphysis. Scale : 10  $\mu$ m.

Dans l'appareil ostiolaire, l'individualisation de périphyse (pe) implantées sur les bords du canal ostiolaire (co) fait apparaître une lumière axiale. Autour, le sommet de la paroi périthéciale (pa) forme une couronne de poils dressés dont les extrémités sont bien individualisées.

Dans la cavité du jeune périthèce, le dôme sporophytique s'affaisse progressivement (Fig. 10, puis 11). Des éléments en voie de disparition sont repérables



12

Fig. 12 — Périthèce adulte : ouverture de l'ostiole au sommet du canal ostiolaire co et maturation des asques as, encore peu nombreux dans la cavité périthéciale v. pa : paroi périthéciale; pe : périphyse. Échelle : 10  $\mu$ m.

Fig. 12 ~ Mature perithecium : ostiole opening at the end of the ostiolar channel co; maturation of a few asci as, in the locule v. pa : perithecial wall; pe : periphysis. Scale : 10  $\mu$ m.

à la base, au contact des courtes paraphyses (p) portées par le ménisque sous-hyménial (me). Au sommet sont formés les premiers asques (as).

L'allongement des asques vers le haut et l'élargissement concomitant du canal ostiolaire (co) à partir de sa base, dans l'axe de la cloche sus-hyméniale (cl), entraînent un changement d'orientation des pseudo-paraphyses (q) qui sont entraînées vers le haut, pivotent et acquièrent ainsi une disposition oblique; à partir de ce stade, il y a continuité entre elles et les périphyses du canal. Dans le même temps, les filaments latéraux s'effacent, les restes de la cloche sus-hyméniale tendent à s'incorporer à la paroi périthéciale en formant sa couche interne.

#### 4) Le périthèce adulte.

Il est d'abord de forme ovoïde (Fig. 12), sa partie supérieure étant plus étroite que sa partie inférieure (sans former toutefois un col distinct); cette dernière s'étend ensuite essentiellement en direction radiale (Fig. 13); le périthèce présente alors une forme plus aplatie.

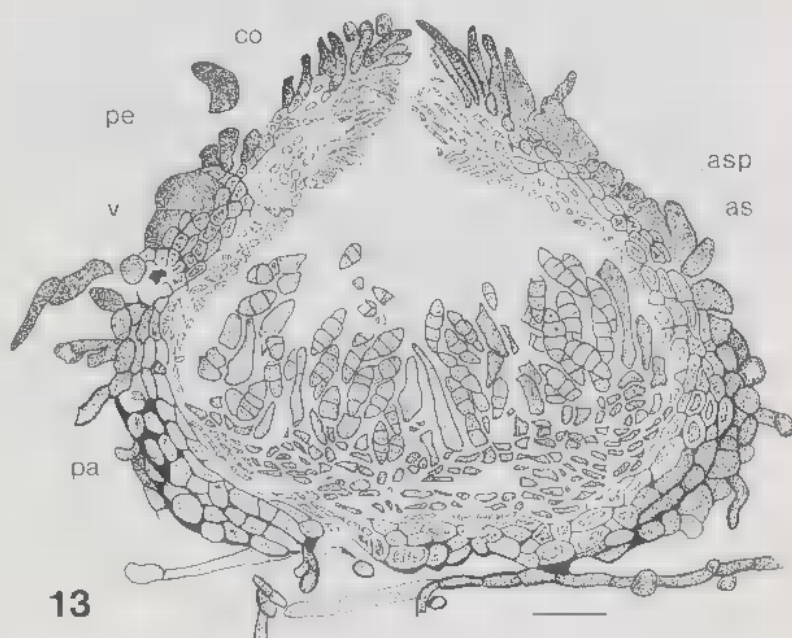


Fig. 13 — Périthèce adulte, à cavité v agrandie et asques as plus nombreux, la plupart ayant déjà produit des ascospores asp septées. co : canal ostiolaire; pa : paroi périthéciale; pe : périphyse. Echelle : 20  $\mu$ m.

Fig. 13 — Mature perithecium with larger locule v and numerous asci as. asp : septate ascospores; co : ostiolar channel; pa : perithecial wall; pe : periphery. Scale : 20  $\mu$ m.

La cavité (**v**) contient uniquement des asques (**as**), implantés à la base dans une cupule sporophytique relativement mince; ils sont bitunikés et renferment, à maturité, huit ascospores (**asp**) septées. Les premiers asques mûrs sont situés au centre (Fig. 12); par la suite de jeunes asques se forment en tous points entre les premiers, de sorte que la disposition finale est totalement désordonnée (Fig. 13).

En bordure de la cavité, les périphyces (**pe**) du canal ostiolaire (**co**) demeurent seules distinctes. L'ostiole s'ouvre au sommet, entouré des poils péri-ostiolaires dépendant de la paroi périthéciale externe; d'autres poils, de même nature, uni- ou pauci-cellulaires se détachent de place en place des flancs du périthèce.

## DISCUSSION

### 1) Le type ontogénique du *Dictyotrichiella semiimmersa*.

Le *Dictyotrichiella semiimmersa* présente un développement de type ascoloculaire clairement caractérisé. Ses ascocarpes sont des pyrénosphères apostromiennes uniloculaires (= périthèces, *sensu* CHADEF AUD, 1960, 1982); elles dérivent de primordiums stromato-glomérulaires comparables à ceux de certains *Leptosphaeria* (PARGUEY-LEDUC, 1966-67).

L'originalité fondamentale de la structure périthéciale des *Herpotrichiella*-ceae, que certaines observations antérieures avaient fait apparaître chez diverses espèces (comme nous l'avons indiqué plus haut), se trouve confirmée et précisée chez le *Dictyotrichiella*. Elle concerne l'évolution de la garniture périloculaire, analysée ici de manière détaillée en suivant le développement de l'ébauche périthéciale; ce point appelle diverses remarques.

Formée, selon la règle, par la périphérie du carpocentre, la garniture périloculaire du *Dictyotrichiella semiimmersa* se différencie progressivement du haut vers le bas. Sur toute sa surface, elle produit des filaments radiaires, qui tous demeurent courts et ne s'entremêlent jamais avec les éléments fertiles (appareil sporophytique, puis asques).

Les premiers filaments formés, sous le plafond de la locule, sont assimilables à des pseudo-paraphyses (*sensu* CHADEF AUD, 1960; LUTTRELL, 1965; PARGUEY-LEDUC, 1966-67); ils présentent en effet deux particularités fondamentales des filaments locaux de ce type; ils prennent naissance au sommet de la locule, plus précisément dans la partie supérieure du carpocentre (*sensu* CHADEF AUD, 1960, 1982) qui forme la cloche sus-hyméniale et leur croissance est dirigée vers le bas. Ils ne possèdent toutefois pas tous les caractères des pseudo-paraphyses typiques puisque : 1) ils demeurent courts, localisés au-dessus des asques (alors qu'ils forment de longs filaments interascaux dans le type *Pleospora*); 2) leur disposition verticale initiale laisse place, au cours de la croissance du jeune ascocarpe, à une disposition oblique, leurs extrémités s'orientant alors vers le canal ostiolaire comme celles des périphyces situées plus haut, et 3) ils sont finalement laminés et ne sont plus distincts dans le périthèce adulte. La ressemblance des pseudo-paraphyses du *Dictyotrichiella semiimmersa*, au terme de leur développement, avec les périphyces du canal justifie l'utilisa-

tion du terme «périphysoïdes» proposé par BARR (1979), mais il est clair que, dans le cas étudié ici au moins, ces filaments, qui ont même origine que les pseudo-paraphyses, n'en sont qu'une variante morphologique.

Après avoir produit ces périphysoïdes dans sa partie supérieure, la périlocule du *Dictyotrichiella semimmersa* continue, sans discontinuité, à se garnir de filaments disposés le long de ses flancs (prolongement de la cloche sus-hyméniale) puis finalement — mais de façon moins régulière — sur sa base (= ménisque sous-hyménial portant des paraphyses atypiques).

Le système de filaments radiaires de la locule du *Dictyotrichiella* ainsi constitué évoque le cas de divers Pyrénomycètes périsporiés, à périthèces pourvus d'une symétrie radiale. Ainsi, chez les Eurotiales, un système de filaments centripètes est présent dans l'ébauche périthéciale, mais il diffère de celui du *Dictyotrichiella* d'une part parce qu'il forme un tissu nourricier et d'autre part parce qu'il dérive de la paroi ascothéciale (le développement étant, dans ce cas, de type ascohyménial). Chez d'autres Périsporiés, de type ascoloculaire, les «pseudo-paraphyses», atypiques, sont disposées radialement comme les filaments du *Dictyotrichiella*, par exemple chez le *Preussia multispora* (CHADEFAUD & al., 1966) et le *Lepidosphaeria nicotiae* (PARGUEY-LEDUC, 1970), mais avec dans chaque cas, des particularités propres. Chez le *Preussia*, les pseudo-paraphyses, peu nombreuses, sont irrégulièrement dispersées sur tout le pourtour de la locule et s'anastomosent en formant un plexus intraloculaire dans lequel sont dispersés l'appareil sporophytique puis les asques. Chez le *Lepidosphaeria*, elles sont implantées par touffes sous chacune des écailles constituant la paroi, demeurent courtes et libres, puis dégénèrent : la garniture périloculaire est ainsi discontinue, scindée en multiples unités équivalentes entre elles.

Dans ces divers cas, l'analogie avec le *Dictyotrichiella* n'est que partielle. Elle résulte vraisemblablement d'un phénomène de convergence; il ne nous paraît pas possible de lui donner une application systématique ou une signification phylogénétique.

## 2) Données comparatives relatives aux Chaetothyriales.

Pour l'ensemble des Chaetothyriales, les données relatives aux ascocarpes sont fragmentaires; elles concernent surtout (outre les asques) la structure du stroma ou de la paroi périthéciale, l'évolution du centre fertile étant généralement négligée. Les documents les plus significatifs, du point de vue qui nous intéresse ici, montrent que l'organisation des périthèces présente une certaine homogénéité, marquée par la présence constante de périphysoïdes (*sensu* BARR, 1979); ils sont relatifs aux Herpotrichiellaceae et Metacapnodiaceae.

Mentionnons parmi les premières : l'*Herpotrichiella setosa* (BARR, 1959) et l'*H. moravica* (von ARX & MÜLLER, 1975), le *Berlesiella nigerrima* (BARR, 1979; von ARX & MÜLLER, 1975) et le *B. fungicola* (SAMUELS & MÜLLER, 1978), l'*Herpotrichia prothelia* (BARR, 1976b) et l'*Acanthostigmella brevispina*; chez cette dernière, BARR & ROGERSON (1983) observent à la fois des périphysoïdes et des pseudo-paraphyses qui se développent entre les asques, leurs

extrémités demeurant libres le plus souvent, et deviennent déliquescentes à maturité. Ce cas est très intéressant, mais malheureusement l'origine exacte des deux types de filaments n'est pas précisée.

La famille des Metacapnodiaceae a été créée par HUGHES en 1972 pour regrouper des genres précédemment inclus dans les Capnodiaceae et qui possèdent en commun, outre certaines particularités morphologiques des hyphes et des formes conidiennes, un stade parfait qui se rattache au type *Pleospora*, avec «pseudo-paraphyses courtes» et asques bituniqués. Ce stade parfait avait été décrit par CORLETT (1970), qui en avait suivi le développement chez le *Metacapnodium juniperi*. Le primordium est pseudo-parenchymateux, probablement de type stromatoïde. La locule périthéciale (portée par un coussinet stromatique formé par la base du primordium) est dépourvue de filaments interascaux et garnie de pseudo-paraphyses courtes qui pendent du plafond puis garnissent les parois depuis l'ostiole jusqu'à la base (aucun filament n'est visible sous les éléments fertiles). Pour CORLETT (1973) ce type de développement est une variante du type *Pleospora*, tandis que REYNOLDS (1971, 1975), refusant d'homologuer les filaments stériles de la locule à des pseudo-paraphyses préfère le rattacher au type *Dothidea*. Chez les autres Metacapnodiaceae (CORLETT & al., 1973) : *Metacapnodium* sp. (= *Limacinia fraseriae*), *Ophiocapnocomma phloiophila* et *O. batistae*, dépourvues de stroma, les pseudo-paraphyses, ramifiées, occupent la partie supérieure de la jeune locule avant d'être lysées. Une autre Capnodiaceae s. l., le *Strigopodia resiniae* présente un ascocarpe du même type, sans qu'il soit possible de la rattacher aux Metacapnodiaceae par ses autres caractères.

En dehors des Chaetothyriales, la présence de périphysoïdes (*sensu* BARR, 1979) a été signalée chez trois *Mycosphaerella* (*Mycosphaerellaceae*, *Dothideales*) : le *M. ascophylli* (KOHLMEYER, 1968), le *M. staticicola* (KOHLMEYER & KOHLMEYER, 1979) et le *M. apophlaeae* (KOHLMEYER & DEMOULIN, 1981) et chez le *Scirrhia acicola* (*Dothideaceae*, *Dothideales*, LUTTRELL, 1973).

### 3) Le cas des Verrucariaceae.

La présence de périphysoïdes (*sensu* BARR, 1979) semble être une constante dans cette famille, du moins prise dans son acception stricte (*sensu* ZAHLBRUCKNER, 1907). De tels filaments sont en effet visibles chez les espèces étudiées du point de vue ontogénique par DOPPELBAUR (1959 : genres *Amphoridium*, *Protobagiettoa*, *Staurothele*, *Thelidium* et *Verrucaria*) et JANEX-FAVRE (1970 : genre *Verrucaria*, 1975 : genre *Staurothele*). A un stade intermédiaire du développement périthécial, il apparaît clairement qu'ils sont produits, en direction basipète, par la partie supérieure du carpocentre et qu'ils sont donc de même nature que les périphysoïdes du *Dictyotrichiella*. La présence de ce stade transitoire (que nous avons dénommé «stade verrucariacéen» in ROUX & al., 1986) nous paraît si clairement caractériser les Verrucariaceae s. s. qu'elle permet de rattacher à cette famille certaines espèces (*Catapyrenium daedaleum*, ROUX & al., 1986; *Endocarpon pusillum*, WAGNER, 1984, 1987)



et d'en exclure d'autres (*Dermatocarpon miniatum*, JANEX-FAVRE, 1970 : pour des espèces de ce type, la famille des Dermatocarpaceae doit donc être conservée; voir discussion in ROUX & al., 1986).

#### 4) La notion de périphysoïdes.

En conclusion de cette étude et des comparaisons qu'elle a suscitées, il nous paraît utile de préciser en quoi le terme de périphysoïdes, utilement introduit par BARR (1979) peut être, comme cet auteur l'a indiqué en 1983, appliqué à des formations qui ne sont pas équivalentes entre elles.

Ainsi, on a vu que chez le *Dictyotrichiella semiimmersa*, et probablement les autres Herpotrichiellaceae et les Metacapnodiaceae, ainsi que chez les Verrucariaceae s. s., leur mode de formation indique que les périphysoïdes sont une variante des pseudo-paraphyses.

D'autres cas pourraient être similaires, en particulier : 1) les filaments du sommet de la cavité périthéciale du *Nectria cinnabarina* (Hypocreales Hypocreaceae) qui, selon STRIKMANN & CHADEFAUD (1961) et PARGUEY-LEDUC (1966-67) sont les tronçons supérieurs de pseudo-paraphyses bien caractérisées dont les tronçons inférieurs se développent entre les asques, et 2) les courts filaments descendants garnissant la partie supérieure de la cavité apothéciale des Ostropales (Discomycètes : BELLEMÈRE, 1967).

Dans d'autres cas, par contre, des filaments d'allure périphysoïde sont de nature différente. Ainsi, les paraphyses secondaires, initialement décrites chez le *Coniochaeta ligniaria* (Sordariales Coniochaetaceae) par DOGUET (1959), qui en observe également chez l'*Epichloe typhina* (Clavicipitales Clavicipitaceae, DOGUET, 1960) : en position extra-hyméniale, elles se forment à la marge de l'ostiole et naissent donc en position de paraphyses, disposées obliquement dans la cavité; elles deviennent des paraphyses à mesure que s'accroît le diamètre de la cavité périthéciale. Selon l'interprétation donnée par CHADEFAUD (1965) et PARGUEY-LEDUC (1967a) elles seraient issues de l'enveloppe ascothéciale (*sensu* CHADEFAUD, 1960) et se rattacheraient à un appareil paraphysoïde homologue de celui de divers Discomycètes. Des paraphyses secondaires extra-hyméniales dérivées d'une ascothécie ont également été observées chez le *Lasiosphaeria hispida* (Sordariales Lasiosphaeriaceae, PARGUEY-LEDUC, 1967b) et l'*Hypoxylon rubiginosum* (Xylariales Xylariaceae, PARGUEY-LEDUC, 1972). Ainsi on ne peut évaluer la nature des périphysoïdes qu'en déterminant leur origine et leur évolution; cette notion est donc purement morphologique.

Il s'ensuit que la seule présence de périphysoïdes dans l'ascocarpe adulte n'est pas révélatrice du type de développement et ne peut donc être utilisée comme critère systématique. Cela est manifeste, par exemple, dans le cas des Verrucariales. Ainsi, HENSSEN & JAHNS (1974) incluent les Verrucariaceae (*sensu* HALE, 1961, c'est-à-dire Dermatocarpaceae confondues) dans les Ascohyméniaux, tandis que, du fait de la présence des périphysoïdes CORLETT (1973) apparente leur centre fertile au type *Pleospora* et que BARR (1979) les rattache aux Ascoloculaires.



Pour notre part, nous avons montré, dès 1970, à l'aide d'observations ontogéniques, que les périthèces des Pyrénolichens, sauf exceptions, ne se rattachent globalement à aucun des types définis chez les non-lichénisants. Les Verrucariaceae possèdent à la fois des caractères d'Ascoloculaires (notamment la présence de filaments descendants comparables à des pseudo-paraphyses) et d'Ascohyméniaux (mode de développement de la paroi, présence éventuelle de paraphyses). Leur rattachement à l'un ou l'autre type ne peut qu'être discutable. Même dans le cas où les périphysoïdes ont valeur de pseudo-paraphyses, leur présence n'est que l'indication d'une tendance ascoloculaire.

#### REMERCIEMENTS :

Nous avons plaisir à remercier, pour leur contribution amicale à ce travail, M. AVNAIM, J. BIDOUX, F. CANDOUSSAU et A. PARGUEY.

#### BIBLIOGRAPHIE

- ARX J.A. von and MÜLLER E., 1975 — A re-evaluation of the bitunicate ascomycetes with keys to families and genera. *Stud. Mycol.* 9 : 159 p.
- BARR M.E., 1959 — Northern Pyrenomycetes. I. Canadian Eastern Arctic. *Contr. Inst. Bot. Univ. Montréal* 73 : 1-101.
- BARR M.E., 1972 — Preliminary studies on the Dothideales in temperate North America. *Contr. Univ. Michigan Herb.* 9 : 523-638.
- BARR M.E., 1976a — Perspectives in Ascomycotina. *Mem. New York Bot. Gard.* 28 : 1-8.
- BARR M.E., 1976b — Some setose saprobic Pyrenomycetes on old Basidiomycetes. *Rhodora* 78 : 53-59.
- BARR M.E., 1979 — A classification of Loculoascomycetes. *Mycologia* 71 : 935-957.
- BARR M.E., 1983 — The Ascomycete connection. *Mycologia* 75 : 1-13.
- BARR M.E. and ROGERSON C.T., 1983 — Two new species of Loculoascomycetes. *Mycotaxon* 17 : 247-252.
- BELLEMÈRE A., 1967 — Contribution à l'étude du développement de l'apothécie chez les Discomycètes Inoperculés. *Bull. Soc. Mycol. France* 83 : 395-640 et 753-931.
- CANDOUSSAU F. et SULMONT P., 1971 — *Dictyotrichiella semitimmersa* nov. sp. *Rev. Mycol.* 36 : 238-242.
- CHADEFAUD M., 1960 — Les Végétaux non vasculaires (Cryptogamie). In : M. CHADEFAUD & L. EMBERGER, *Traité de Botanique systématique*. Tome I. Paris, Masson, XV + 1018 p., 713 fig.
- CHADEFAUD M., 1965 — Sur le *Coryneum kunzei* Corda et les organes reproducteurs des Ascomycètes. *Bull. Soc. Mycol. France* 81 : 120-164.
- CHADEFAUD M., PARGUEY-LEDUC A. et BOUDIN M., 1966 — Sur les périthèces et les asques du *Preussia multispora* (Saito et Minoura) Cain et sur la position systématique du genre *Preussia*. *Bull. Soc. Mycol. France* 82 : 93-122.

- CHADEFAUD M., 1982 — Les principaux types d'ascocarpes : leur organisation et leur évolution. 3ème partie : les Pyrénocarpes. *Cryptogamie, Mycol.* 3 : 199-235.
- CORLETT M., 1970 — Ascocarp development of two species of sooty molds. *Canad. J. Bot.* 48 : 991-995.
- CORLETT M., 1973 — Observations and comments on the *Pleospora centrum* type. *Nova Hedwigia* 24 : 347-366.
- CORLETT M., HUGHES S.J. and KAUFERT M., 1973 — New Zealand Fungi 19. Centrum organisation in some Euantennariaceae and Metacapnodiaceae. *New Zealand J. Bot.* 11 : 213-230.
- DOGUET G., 1959 — Organogénie du périthèce du *Coniochaeta lignaria*. Comparaison avec l'organogénie des *Xylaria* et des Discomycètes angiocarpes. *Rev. Mycol.* 24 : 18-38.
- DOGUET G., 1960 — Morphologie, organogénie et évolution nucléaire de l'*Epichloe typhina*. La place des Clavicipitaceae dans la classification. *Bull. Soc. Mycol. France* 76 : 171-203.
- DOPPELBAUR H.W., 1959 — Studien zur Anatomie und Entwicklungsgeschichte einiger endolithischen pyrenocarpen Flechten. *Planta* 53 : 246-292.
- ERIKSSON O., 1981 — The families of bitunicate Ascomycetes. *Opera Bot.* 60 : 220 p.
- ERIKSSON O., 1982a — Outline of the ascomycetes 1982. *Mycotaxon* 15 : 203-248.
- ERIKSSON O., 1982b — Revision of «Outline of the ascomycetes - 1982». *Systema Ascomycetum* 1 : 1-16.
- ERIKSSON O., 1983 — Outline of the ascomycetes - 1983. *Systema Ascomycetum* 2 : 38 p.
- ERIKSSON O., 1984 — Outline of the ascomycetes - 1984. *Systema Ascomycetum* 3 : 72 p.
- ERIKSSON O. and HAWKSWORTH D.L., 1985 — Outline of the ascomycetes - 1985. *Systema Ascomycetum* 4 : 79 p.
- ERIKSSON O. and HAWKSWORTH D.L., 1986a — An alphabetical list of the generic names of ascomycetes. *Systema Ascomycetum* 5 : 3-111.
- ERIKSSON O. and HAWKSWORTH D.L., 1986b — Outline of the ascomycetes - 1986. *Systema Ascomycetum* 5 : 185-324.
- ERIKSSON O. and HAWKSWORTH D.L., 1987a — An alphabetical list of the generic names of ascomycetes - 1987. *Systema Ascomycetum* 6 : 1-109.
- ERIKSSON O. and HAWKSWORTH D.L., 1987b — Notes on ascomycete systematics. N° 225-463. *Systema Ascomycetum* 6 : 111-165.
- HALE M.E., 1961 — *Lichen Handbook*. Washington D.C., Smithsonian Institution, 178 p.
- HENSSEN A. and JAHNS H.M., 1974 — *Lichenes*. Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 467 p.
- HUGHES S.T., 1972 — New Zealand Fungi 17. Pleomorphism in Euantennariaceae and Metacapnodiaceae, two new families of sooty moulds. *New Zealand J. Bot.* 10 : 225-242.
- JANEX-FAVRE M.C., 1970 — Recherches sur l'ontogénie, l'organisation et les asques de quelques Pyrénolichens. *Rev. Bryol. Lichénol.* 37 : 421-650.
- JANEX-FAVRE M.C., 1975 — L'ontogénie et la structure des périthèces du *Staurothele sapaudica* (Pyrénolichen, Verrucariacées). *Rev. Bryol. Lichénol.* 41 : 477-494.
- KOHLMEYER J., 1968 — Revisions and descriptions of algicolous marine fungi. *Phytopathol. Z.* 63 : 341-363.
- KOHLMEYER J. and KOHLMEYER E., 1979 — *Marine Mycology. The higher Fungi*. New York and London, Academic Press, 690 p.
- KOHLMEYER J. and DEMOULIN V., 1981 — Parasitic and symbiotic fungi on marine algae. *Bot. Mar.* 24 : 9-18.

- LUTTRELL E.S., 1965 — Paraphysoids, pseudoparaphyses, and apical paraphyses. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 48 : 135-144.
- LUTTRELL E.S., 1973 — Ascomycotina, Loculoascomycetes. Loculoascomycetes. In : AINSWORTH G.C., SPARROW F.K. & SUSSMAN A.S., *The Fungi. An Advanced treatise*, IVA. New York, San Francisco, London, Acad. Press : 135-219.
- MÜLLER E. und ARX J.A. von, 1962 — Die Gattungen der didymosporen Pyrenomyceten. *Beitr. Kryptogamenfl. Schweiz* 11 : 922 p.
- MÜLLER E., PETRINI O., FISCHER P.J., SAMUELS G.J. and ROSSMAN A.Y., 1987 — Taxonomy and anamorphs of the Herpotrichiellaceae with notes on generic synonymy. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 88 : 63-74.
- MUNK A., 1953 — The system of the Pyrenomycetes. *Dansk Bot. Ark.* 15 : 163 p.
- MUNK A. 1957 — Danish Pyrenomycetes. A preliminary flora. *Dansk Bot. Ark.* 17 : 491 p.
- PARGUEY-LEDUC A., 1966-1967 — Recherches sur l'ontogénie et l'anatomie comparée des ascocarpes des Pyrénomycètes ascoloculaires. *Ann. Sci. Nat. Bot., 12ème série*, 7 : 505-690, 8 : 1-110.
- PARGUEY-LEDUC A., 1967a — Recherches préliminaires sur l'ontogénie et l'anatomie comparée des ascocarpes des Pyrénomycètes ascohyméniaux. II. Structure et développement des ascothécies. *Rev. Mycol.* 32 : 259-277.
- PARGUEY-LEDUC A., 1967b — Recherches préliminaires sur l'ontogénie et l'anatomie comparée des ascocarpes des Pyrénomycètes ascohyméniaux. III. Les asques des Sordariales et leurs ascothécies, du type «*Diaporthe*». *Rev. Mycol.* 32 : 369-407.
- PARGUEY-LEDUC A., 1970 — Un genre nouveau de Pyrénomycète ascoloculaire : le g. *Lepidosphaeria*. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci., Sér. D.* 270 : 2784-2786.
- PARGUEY-LEDUC A., 1972 — Recherches préliminaires sur l'ontogénie et l'anatomie comparée des ascocarpes des Pyrénomycètes ascohyméniaux. V. Les asques des Xylariales et leurs ascothécies du type «*Xylaria*». *Rev. Mycol.* 36 : 194-237.
- REYNOLDS D.R., 1971 — Notes on capnodiaceous Fungi II. *Leptocapnodium*. *Bull. Torrey Bot. Club* 98 : 151-154.
- REYNOLDS D.R., 1975 — The centrum of the sooty mold Ascomycete *Limacinula samoensis*. *Amer. J. Bot.* 62 : 775-779.
- ROUX C., BELLEMÈRE A., BOISSIERE J.C., ESNAULT J., JANEX-FAVRE M.C., LETROUT-GALINO M.A. et WAGNER J., 1986 — Les bases de la systématique moderne des Lichens. *Bull. Soc. Bot. France* 133, Actualités Bot. : 7-40.
- SAMUELS G.J. and MÜLLER E., 1978 — Life-history studies of brazilian Ascomycetes 3. *Sydowia* 31 : 142-156.
- STRIKMANN E. et CHADEFAUD M., 1961 — Recherches sur les asques et les périthèces des *Nectria*, et réflexions sur l'évolution des Ascomycètes. *Rev. Gén. Bot.* 68 : 725-770.
- WAGNER J., 1984 — Étude du thalle et des périthèces du Pyrénolichen *Endocarpon pusillum* Hedw. Thèse 3ème cycle, Univ. Pierre et Marie Curie, Paris.
- WAGNER J., 1987 — L'ontogénie des périthèces de l'*Endocarpon pusillum* Hedw. (Pyrénolichen, Verrucariacées). *Canad. J. Bot.* 65 : 2441-2449.
- ZAHLEBRÜCKNER A., 1907 — Lichenes (Flechten). In : ENGLER & PRANTL, *Die natürlichen Familien*. Leipzig, Engelmann, T. 1 Ab. 1 : 49-243.



## THE HOST SPECIFICITY OF *UROPHLYCTIS LEPROIDES* (TRAB.) MAGN.

by Tijani HADAR\*

**SUMMARY.** — Marbled tumor formation is induced on sugar beet (*Beta vulgaris* L.) by the fungus *Urophlyctis leproides*. Using the beet parasite prosperangia as inoculum one trial involving 70 herbaceous plant species was carried out. Only sugar beet was susceptible to this disease.

**RÉSUMÉ.** — *Urophlyctis leproides* est le champignon responsable de la formation des tumeurs marbrées de la Betterave à sucre (*Beta vulgaris* L.). Utilisant les prosperanges du parasite de la Betterave comme inoculum, un essai d'infection sur 70 espèces de plantes herbacées a été entrepris. Seule la Betterave est sensible à cette maladie.

**KEY WORDS :** sugar beet, tumors, host range, host specificity.

### INTRODUCTION

*Urophlyctis leproides* (Trab.) Magn., the beet tumors fungus normally attacking the crown and leaves of sugar beet in North Tunisia (Fig. 1) was reclassified into the Urophlyctaceae (HADAR, 1982) a new family of the Spizellomycesales. Thus far little is known about the host range of *U. leproides* (HADAR, 1986). The purpose of this investigation was to be determined whether *U. leproides* produces tumors on plants other than *Beta vulgaris*.

### MATERIALS AND METHODS

Inoculation with non-dormant prosperangia of *U. leproides* from sugar beet tumors was carried out in a growth chamber under favorable conditions for pathogenesis (25-30°C, 650 lux from continuous fluorescent light, 1 kg of soil infested with 18 g of dried tumors, heavy watering). Seventy species (10 individual plants) of plant were transplanted into infested soil in two series and incubated for 3 months. These species (Table 1) were chosen because they are common weeds and economically important plants in Tunisia. Plant names were taken from «Flore de la Tunisie» (POTTIER - ALAPETITE, 1979).

\* Institut National Agronomique de Tunisie, Laboratoire de Botanique, 43, avenue Charles Nicolle, Tunis, Tunisie.

TABLE 1

<b>Amaranthaceae</b>	<b>Euphorbiaceae</b>
<i>Amaranthus retroflexus</i> L.	<i>Chrozophora tinctoria</i> Juss.
<i>Amaranthus gracilis</i> Desf.	<i>Euphorbia helioscopia</i> L.
<i>Amaranthus blitoides</i> S. Wats.	<i>Euphorbia peplus</i> L.
<i>Amaranthus graecizans</i> L.	<i>Mercurialis annua</i> L.
<i>Amaranthus cruentus</i> L.	<b>Fabaceae</b>
<b>Apiaceae</b>	<i>Coronilla scorpioides</i> (L.) Koch.
<i>Ammi majus</i> L.	<i>Medicago ciliaris</i> Krack.
<i>Coriandrum sativum</i> L.	<i>Medicago hispida</i> Gaertn.
<i>Daucus carota</i> L.	<i>Medicago sativa</i> L.
<i>Kundmania sicula</i> DC.	<i>Melilotus sulcata</i> Desf.
<i>Petroselinum sativum</i> Hoffm.	<i>Trifolium jaminianum</i> Boiss.
<i>Torilis nodosa</i> Gaert.	<i>Vicia faba</i> L.
<b>Asteraceae</b>	<i>Vicia sativa</i> L.
<i>Anacyclus clavatus</i> Desf.	<b>Lamiaceae</b>
<i>Aster squamatus</i> Hiert.	<i>Lamium amplexicaule</i> L.
<i>Calendula arvensis</i> L.	<i>Mentha pulgégium</i> L.
<i>Chrysanthemum coronarium</i> L.	<i>Salvia verbenaca</i> L.
<i>Cichorium intybus</i> L.	<b>Liliaceae</b>
<i>Erigeron bonariensis</i> L.	<i>Urginea maritima</i> (L.) Bah.
<i>Lactuca sativa</i> L.	<b>Papaveraceae</b>
<i>Picris echioides</i> L.	<i>Papaver rhæas</i> L.
<i>Sonchus oleraceus</i> L.	<b>Poaceae</b>
<b>Boraginaceae</b>	<i>Hordeum murinum</i> L.
<i>Borago officinalis</i> L.	<i>Lolium rigidum</i> Gaud.
<i>Heliotropium europæum</i> L.	<i>Phalaris paradoxa</i> L.
<b>Brassicaceae</b>	<i>Poa annua</i> L.
<i>Brassica napus</i> L.	<i>Zea mays</i> L.
<i>Capsella bursa-pastoris</i> L.	<b>Polygonaceae</b>
<i>Diplotaxis erucoides</i> (L.) DC.	<i>Emex spinosus</i> (L.) Campd.
<i>Raphanus raphanistrum</i> L.	<i>Polygonum aviculare</i> L.
<i>Raphanus sativus</i> L.	<i>Rumex bucephalophorus</i> L.
<i>Sinapis arvensis</i> L.	<b>Portulacaceae</b>
<b>Chenopodiaceae</b>	<i>Portulaca oleracea</i> L.
<i>Beta macrocarpa</i> Guss.	<b>Ranunculaceae</b>
<i>Beta vulgaris</i> L.	<i>Ranunculus muricatus</i> L.
<i>Chenopodium album</i> L.	<i>Ranunculus sardous</i> Crantz
<i>Chenopodium murale</i> L.	<b>Solanaceae</b>
<i>Chenopodium opulifolium</i> Schrad.	<i>Capsicum annuum</i> L.
<i>Chenopodium vulvaria</i> L.	<i>Solanum lycopersicum</i> L.
<i>Spinacia oleracea</i> L.	<i>Solanum nigrum</i> L.
<b>Convolvulaceae</b>	<i>Solanum tuberosum</i> L.
<i>Convolvulus arvensis</i> L.	<b>Urticaceae</b>
<i>Convolvulus lineatus</i> L.	<i>Urtica urens</i> L.

## OBSERVATIONS AND DISCUSSION

In this experiment *U. leproides* tumors were often observed on cultivated sugar beets rarely on wild beets. Tumors were artificially produced on eight commercially available cultivars of *B. vulgaris* (HADAR, 1986).



Figures 1-2 : symptoms of *Urophlyctis leproides* on sugar beet. — 1 : crown tumor of a plant naturally infected. 2 : various tumors on leaves artificially inoculated.

Figures 1-2 : symptômes d'*Urophlyctis leproides* sur la Betterave à sucre. — 1 : tumeur envahissant naturellement le collet. 2 : diverses tumeurs obtenues expérimentalement sur les feuilles.

As earlier indicated, the life cycle of this fungus consists of an endobiotic stage in living tissue of *B. vulgaris* and a saprophyte stage (HADAR, 1985). Among 70 species of plants belonging to different families, and including some chenopodiaceous species (*Beta vulgaris*, *Beta macrocarpa*, *Chenopodium album*, *Chenopodium murale*, *Chenopodium opulifolium*, *Chenopodium vulvaria* and



*Spinacia oleracea*) only sugar beet (*Beta vulgaris* L.) shows successful infection judged leaf tumor formation visible at 5 weeks after incubation (Fig. 2). Since the work thus far indicates that the host range of this fungus may be narrow, there is a possibility that *U. leproides* is endemic to sugar beet crop areas and has become adapted to this species at its specific chenopodiaceous host. Similar coevolution between related monophagous species of *Urophlyctis* and their specific hosts was mentioned in the literature such *U. pulposa* (Wall.) Schro. on *Atriplex patula* L., *U. pottero* Bartl. on *Lotus corniculatus* L., *U. alfalfae* (Lagh.) Magn. on *Medicago sativa* L. and *U. hemisphaerica* (Speg.) Syd. on *Kundmania sicula* DC. The causal fungus of *Beta vulgaris* tumors was non pathogenic on *M. sativa* and *K. sicula*. The finding that *U. leproides* affects only *B. vulgaris* is further evidence of its narrow host range specificity, and may be used as a taxonomic criterion in the identification of the pathogen responsible for this specific beet disease.

ACKNOWLEDGEMENTS : We thank Prof. G. Bompeix for critically reading the manuscript.

#### REFERENCES

- HADAR T., 1982 — The Urophlyctaceae, a new family of Spizellomycetales. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci., Sér. III*, 294 : 329-333.
- HADAR T., 1985 — Le cycle de développement de l'*Urophlyctis leproides* (Trab.) Magn. parasite de la Betterave. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci., Sér. III*, 301 : 255-260.
- HADAR T., 1986 — Ecological study of the marbled tumors disease of sugar beet in Tunisia and prospects of its control. *Arab J. Pl. Protect.* 4 : 109-111.
- POTTIER-ALAPETITE G., 1979 — *Flore de la Tunisie*. Tunis Minist. Ens. Sup. et Minist. Agric.

## CONTROL GROWTH OF WOOD-ROTTING FUNGI BY NON-VOLATILE METABOLITES FROM *TRICHODERMA* SPP. AND *GLIOCLADIUM VIRENS*

by Lina BETTUCCI, Sandra LUPO and Sylvia SILVA\*

**SUMMARY** – *Trichoderma* spp. and *Gliocladium virens* isolated from grassland soil were tested for growth inhibition of 10 wood-rotting Basidiomycetes. *T. hamatum* was the most active inhibitor against the Basidiomycetes and the only one producing growth stimulation at least for one species. Growth inhibition of many Basidiomycetes decreases with time. This was clearly correlated with antagonistic metabolites diffusion in agar. There were few species that failed to show clear inhibition with some of the antagonistic moulds. *Fomes pomaceus*, one of the most sensitive species, was completely inhibited by *G. virens* at a relative high metabolite concentration : the inoculum transferred to fresh medium culture failed to develop.

**RÉSUMÉ** – L'activité inhibitrice des métabolites non-volatiles de *Trichoderma* spp. et de *Gliocladium virens*, isolés à partir d'un sol de prairie, a été testée sur 10 souches de Basidiomycètes lignivores. *T. hamatum* est l'inhibiteur le plus actif vis-à-vis de ces souches et est le seul à stimuler la croissance d'au moins une des espèces. L'inhibition diminue avec le temps et est corrélée avec la diffusion des métabolites dans le milieu de culture. Peu de souches sont insensibles à l'effet inhibiteur des moisissures, la plupart montrent une sensibilité très nette. *Fomes pomaceus*, une des espèces les plus sensibles, est complètement inhibée par *G. virens*, à des concentrations de métabolites relativement élevées.

**KEY WORDS** : wood-rotting fungi, *Trichoderma* spp., *Gliocladium virens*, growth control, non-volatile metabolites.

### INTRODUCTION

*Trichoderma* spp. as effective control agents of several phytopathogens (CHET, 1987) and of some wood-rotting Basidiomycetes (RICARD, 1977; BRUCE & KING, 1983; BRUCE & al., 1984) have been confirmed. Less consideration has been given to the activity of *Gliocladium virens* Miller, Giddens & Foster perhaps due to the confusion prevalent at regards the identity of this fungus (WEBSTER & LOMAS, 1964; DENNIS & WEBSTER, 1971a), since we

\* Departamento de Botánica, Facultad de Humanidades y Ciencias, Universidad de la República, Tristán Navaja 1674, Montevideo, Uruguay.

are dealing with a species less frequent than *Trichoderma* spp. with respect to the mode of action against wood-rotting fungi, few studies have been carried out (BRUCE & al., 1984; SILVA & LUPO, 1987; LUPO & SILVA, 1987).

Apart from production of non-volatile metabolites and production of volatile metabolites (DICK & HUTCHINSON, 1966; HUTCHINSON & COWAN, 1972; DENNIS & WEBSTER, 1971b; BRUCE & al., 1984), competition for nutrients (HULME & SHIELDS, 1972) and mycoparasitism (CHET, 1987) were found to be forms of control of certain fungus species by *Trichoderma* spp. The reduction of nutrients has been discussed on the basis of results obtained by BRUCE & KING (1983). The existence of these mechanisms, independently or simultaneously, constitutes a form of reduction of the niche of the involved species.

The present work studies the antagonistic activity of three species of *Trichoderma* and *Gliocladium virens* isolated from natural grassland soil (Canelones, Uruguay). Most of the cultures of wood-rotting fungi were isolated from fruit-bodies growing on fallen branches and trunks of native and introduced species (BETTUCCI & GUERRERO, 1971; BETTUCCI, 1987a; PIAGGIO, 1987). *Sistotrema brinkmannii* (Bres.) J. Erikss. was isolated from vegetative mycelium which colonize buried woods of *Abies religiosa* H.B.K. Schl. et Cham. (Parque Nacional, Desierto de Los Leones, Mexico) (BETTUCCI, 1983, 1984) and subsequently identified from their cultures. *Fomes pomaceus* (Pers. ex S.F. Gray) Lloyd was isolated from carpophores developed on the lesions of a standing live peach tree.

## MATERIALS AND METHODS

In order to bring out the potential antagonistic effect of non-volatile diffusible metabolites produced by strains of *Trichoderma hamatum* (Bonord.) Bain. (MVHC 5316), *Trichoderma koningii* Oudem. (MVHC 5333), *Trichoderma harzianum* Rifai (MVHC 5318) and *Gliocladium virens* Miller, Gidden and Foster (MVHC 5355), a modified version of the technique proposed by DENNIS & WEBSTER (1971a) was used. Petri dishes containing 18 ml of 2 % agar-malt were utilized. An autoclaved cellophane paper membrane was placed upon the culture medium of fresh antagonistic cultures and 6 mm diameter agar disks were inoculated on the center. These inoculations were carried out with disks obtained from growth area of young cultures of the following wood-rotting Basidiomycetes : *Fomitopsis feei* (Fr.) Kreisel (MVHC 5), *Heteroporus biennis* (Bull. ex Fr.) Sing. (MVHC 106), *Fomes pomaceus* (Pers. ex S. F. Gray) Lloyd (MVHC 5004), *Coriolus pinsitus* (Fr.) Pat. (MVHC 5051), *Gloeoporus dichrous* (Fr.) Bres. (MVHC 5042), *Sistotrema brinkmannii* (Bres.) J. Eriks. (MVHC 96), *Picnoporus sanguineus* (L. Meyer ex Fr.) Murr. (MVHC 5050), *Coriolus versicolor* (L. ex Fr.) Quél. (MVHC 5031), *Laetiporus sulphureus* (Bull. ex Fr.) Murr. (MVHC 5067), *Pheocoriolellus trabeus* (Pers. ex Fr.) Kotl. & Pouz. (MVHC 5138). These inoculations were carried on with disks obtained from the growth area of young cultures.

Growth was measured daily and compared with the control until the latter was found to occupy the maximum diameter of the dish.

Four replicates of the controls and of the previously antagonist-treated dishes were performed. Moreover, in order to assess the effect of the concentration gradient of diffusible metabolite, four disks were respectively placed at 2 cm and 4 cm from the initial inoculum towards the edge of the dish.

Tests were performed at 23°C and pH 4 at the beginning of the experiment.

The multiple comparisons by T method (SCHEFFEE, 1959) was carried out to establish the ordination of antibiotic effect on the growth of tested fungi in relation with the control ones.

The activity of each antagonist with each of the 10 Basidiomycetes species was analyzed separately. Also determined was the effect of the diffusion of metabolites in the culture medium by comparing the growth rate of the disks inoculated at a certain distance from the center in relation with the control and the disk inoculated in the center.

A scale of relative sensitiveness of the Basidiomycetes produced by each antagonist, was developed. The inocula which were completely inhibited by the potential antagonist were transferred to a fresh culture medium to detect any fungicidal activity.

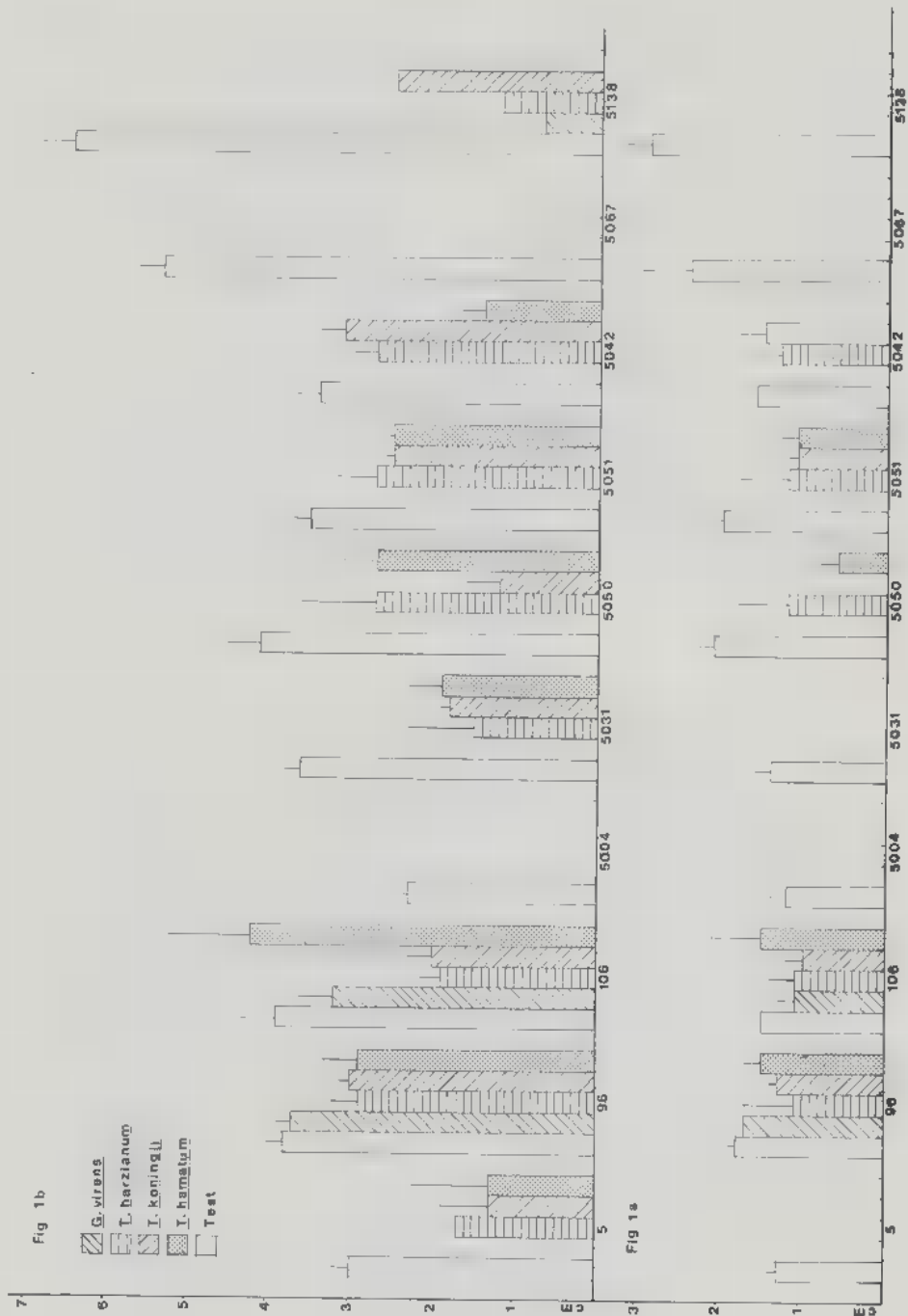
## RESULTS

Figure 1a shows that after 48 h of development, of the 10 wood-rotting Basidiomycetes tested, 8 exhibited zero growth with respect to *G. virens*, 7 with *T. hamatus*, 6 with *T. koningii* and 4 with *T. harzianum*. The number of species which failed to develop has decreased to one half or less by the fourth day, except those tested with *G. virens* which present almost the same behaviour (Fig. 1b).

Table 1 shows the percentage of growth inhibition by the diffusible metabolites of *G. virens* and *Trichoderma* spp. when the controls are found to cover the dishes. Evidently the time for covering control Petri dishes is different for each lignivorous species. The most sensitive species to the antagonistic effect were *F. feei*, *F. pomaceus*, *Ph. trabeus* and *L. sulphureus* but they do not exhibit equivalent sensibility to the same antagonists. *L. sulphureus* failed to grow (or showed negligible growth) with the four antagonists, *F. pomaceus* with *G. virens* and *T. hamatum*, *Ph. trabeus* with *G. virens* and *T. koningii* and *F. feei* and *G. dichrous* with *G. virens*.

The T method (SCHEFFEE, 1959) was carried out to assess the differences between the average areas (under the graded curves of growth) of the controls and those submitted to potential antagonists. Growth data were recorded until the control colony covered the maximum diameter of the Petri dish (9 cm).

*Heteroporus biennis* with *T. hamatum* covered the dish earlier than the control, its growth is stimulated instead of inhibited.



	<i>G. virens</i>	<i>T. harzianum</i>	<i>T. koningii</i>	<i>T. hamatum</i>
<i>F. feei</i>	83.87	48.8	34.4	8.8
<i>S. brinkmannii</i>	0	7.8	5.5	8.8
<i>H. biennis</i>	0	13.3	16.7	*
<i>F. pomaceus</i>	100	68.9	51.1	100
<i>C. versicolor</i>	74.4	32.2	30	13.3
<i>P. sanguineus</i>	61.1	6.6	54.4	■
<i>C. pinsitus</i>	52.2	8.8	10	■
<i>G. dichrous</i>	90	11.1	11.1	26.7
<i>L. sulphureus</i>	100	82.2	100	100
<i>Ph. trabeus</i>	100	58.8	85.5	27.8

Table 1 — Growth inhibition (%) of the Basidiomycetes exposed to metabolites diffusible in the medium (*G. virens* and *Trichoderma* spp.) at the moment when the control attains 9 cm in diameter (it covers the Petri dish). \* There is a significant difference in growth by stimulation instead of inhibition.

Tableau 1 — Inhibition de la croissance des Basidiomycètes exposés aux métabolites diffusibles (*G. virens* et *Trichoderma* spp.). Diamètre de la culture témoin : 9 cm. \* Différence significative par stimulation et non par inhibition de la croissance.

On the other hand, the growth of *G. dichrous* and *S. brinkmannii* does not significantly differ from the controls when tested with *T. koningii*.

The remaining tested species are significantly inhibited by antagonist with different effectiveness, according to the Basidiomycete and to the antagonist.

In accordance with the degree of significance of the differences between the growth of controls and the treated ones (Table 2), the most sensitive species were *F. pomaceus*, *L. sulphureus* and *Ph. trabeus*, while the least sensitive were *S. brinkmannii* and *H. biennis*. The remaining species do not differ from one another in their response to the inhibitory activity of the antagonists, considered as a whole.

In turn, *G. virens* was the most efficient inhibitor of growth in most cases analyzed.

No growth was noted when *F. pomaceus* was tested with *G. virens*; when the same disks were transferred to a fresh culture medium without antagonist, they likewise failed to show development of the mycelium.

Figure 1 — Means of the growth diameter (cm) of Basidiomycetes species (confidence interval  $\pm 95\%$ ) within 2 days of inoculation (a) and 4 days of inoculation (b). 5 : *F. feei*, 96 : *S. brinkmannii*, 106 : *H. biennis*, 5004 : *F. pomaceus*, 5031 : *C. versicolor*, 5050 : *P. sanguineus*, 5051 : *C. pinsitus*, 5042 : *G. dichrous*, 5067 : *L. sulphureus*, 5138 : *Ph. trabeus*.

Figure 1 — Croissance moyenne (diam. en cm) des Basidiomycètes (intervalle de confiance  $\pm 95\%$ ) 2 jours (a) et 4 jours (b) après l'inoculation.

	<i>G. virens</i>	<i>T. harzianum</i>	<i>T. koningii</i>	<i>T. hamatum</i>
<i>F. foet.</i>	4	1	1	1
<i>S. brinkmannii</i>	0	1	0	1
<i>H. biennis</i>	2	1	1	*
<i>F. pomaceus</i>	4	3	3	4
<i>C. versicolor</i>	3	2	1	1
<i>P. sanguineus</i>	3	1	2	1
<i>C. pinastus</i>	3	1	2	1
<i>G. dichrous</i>	4	1	0	2
<i>L. sulphureus</i>	4	4	4	4
<i>Ph. trabeus</i>	4	3	4	3

Table 2 — Growth inhibition ranked in the values of the significant differences. 0 : no effect of antagonist (no significant difference), 4 : maximum effect of the antagonist (zero or negligible Basidiomycete growth).

Tableau 2 — Inhibition de la croissance ordonnée selon les valeurs des différences significatives. 0 : effet nul de l'antagoniste (pas de différence significative), 4 : effet maximal de l'antagoniste (croissance nulle ou négligeable des Basidiomycètes).

	<i>G. virens</i>			<i>T. harzianum</i>			<i>T. koningii</i>			<i>T. hamatum</i>		
	0	2	4	0	2	4	0	2	4	0	2	4
<i>F. foet.</i>	100	100	100	100	100	0	100	100	0	100	33	0
<i>S. brinkmannii</i>	2.86	14.3	14.3	64.6	25.7	14.3	25.7	37.1	16	13.1	21.7	5.7
<i>H. biennis</i>	28.7	0	■	28.7	5.33	0	35.3	22	■	■	■	0
<i>F. pomaceus</i>	100	100	0	100	100	10.3	100	100	8.5	100	100	0
<i>C. versicolor</i>	100	100	0	100	100	1.4	100	8.4	0	100	19	0
<i>P. sanguineus</i>	100	100	41	43.4	3.3	0.9	100	100	32.7	100	21.2	9.4
<i>C. pinastus</i>	100	100	■	42.1	7.4	0	48	33.2	1	44.6	25.7	0
<i>G. dichrous</i>	100	100	■	22.8	3.1	0	7.4	10.5	■	100	34	0
<i>L. sulphureus</i>	100	100	42.6	100	100	54.9	100	100	42.6	100	100	■
<i>Ph. trabeus</i>	100	100	22.1	100	100	100	100	100	51.9	100	46	31.1

Table 3 — Growth inhibition of Basidiomycetes (%), when the inoculum disks are placed in the center (0), 2 and 4 cm from the center. Growth of the control was considered as 100 %.

Tableau 3 — Inhibition de la croissance des Basidiomycètes (%) lorsque l'inoculum est placé au centre (0), à 2 et 4 cm du centre. Croissance du témoin : 100 %.

On the other hand, the inoculum disk of *P. sanguineus* tested with *G. virens* became stained more intensely than do the control, during the first 48 hours. After this delay the mycelium started to grow. Apparently this growth was allowed by the decrease of metabolites concentration in the central zone around the disk.

Generally at hour 48, disks inoculated far from the dish center, appeared less affected by the inhibitory activity than those of the center, the more so with



greater distance. By contrast, *S. brinkmannii* tested with *G. virens*, as well as with *T. hamatus* and *T. koningii*, was inhibited somewhat closer to the edge of the dish than to its center. The inocula lying in the center were less inhibited than those placed within 2 cm. This fact remains unexplained. Moreover, *P. sanguineus* and *L. sulphureus* exhibited a marked inhibition at the innermost half of disk inoculated within 4 cm while the outermost half was less affected when tested with *G. virens* and *T. koningii*. *F. pomaceus* mycelium placed within 2 cm grew outwardly and upwardly, starting from the fourth day of inoculation with *T. harzianum* and the fifth day with *T. koningii*. The outermost disks of *F. pomaceus*, with *G. virens*, start growth eleven days after inoculation; disks placed within 2 cm had been totally inhibited in their growth.

Inhibition was calculated by means of  $I = \frac{B \times 100}{T} - 100$ , B being the mean of the diameters of the Basidiomycete colonies tested with a potential antagonist and T the mean of the diameters of the control colonies (Table 3).

## DISCUSSION

The discussion hinged fundamentally upon the results obtained within the 48 hours following the inoculation of the tested species, as it was deemed that the antagonistic effect is affected by the diffusion of metabolites and by the discontinuance of their production following the elimination of the antagonistic species from the culture medium.

The species of wood-rotting fungi tested exhibit variable sensitivity to the inhibitory effect of diffusible metabolites of *Trichoderma* spp. and *G. virens*. It should be stressed that, at the same concentration, the same antagonist affects the different Basidiomycetes in a different manner.

The effect of concentration may be different, fungistatic or fungicidal. While at high concentration *G. virens* was fungicidal for *F. pomaceus*, with *L. sulphureus* it behaved as fungistatic. This latter fungus, following decrease of concentration, begins to grow while *F. pomaceus* does not, even when transferred to a medium without an antagonist. This is in agreement with other reports (DENNIS & WEBSTER, 1971a; BRUCE & al., 1984) in which it is stated that the antagonistic effect is species-specific.

Moreover, as pointed out by DENNIS & WEBSTER (1971a) not all the strains of the same antagonistic species are equally efficient.

The growth rate is not only manner in which the Basidiomycetes are able to overcome the antagonistic effect but it is a liable mean evaluation of antagonistic activity. This effect becomes manifest with similar intensity in *F. pomaceus* and *L. sulphureus*. Both species present a different growth rate; the former, slow, the latter, very fast. On the other hand, *S. brinkmannii*, which exhibits a comparatively fast growth does not practically present sensitivity to antagonists.

The effect of diffusion of metabolites, as seen in Table 3, is a marked one, since in 65 % of cases sensitiveness was maximal in the center and within 2 cm,

48 hours after inoculation, and declined or dropped to zero within 4 cm.

*L. sulphureus* is the most sensitive species at the lowest concentration as it is inhibited by three of the four antagonists (*G. virens*, *T. harzianum*, *T. konin-gii*) between 42 % and 55 % of its growth 4 cm from the center. On the other hand *G. virens* has a fungicidal effect upon *F. pomaceus* but only at the center or 2 cm from the inoculum of the antagonist. It was furthermore seen that *H. biennis* was stimulated in the presence of *T. hamatum*.

HULME & SHIELD (1970) postulated that in the case of *G. virens* the effect of the diffusible substances does not have an important ecological significance; what confer a greater competitive ability to this fungus is its high growth rate. In the condition tested we cannot suggest competition for nutrients because the antagonist does not coexist with the Basidiomycete; there only remain the diffusible substances and, moreover, this assertion is conformed by the fact that *F. pomaceus* and *L. sulphureus* have the same behaviour independently of their growth rates.

These results and those obtained by BRUCE & al. (1984) therefore contradict interpretations by HULME & SHIELD (1972) as the only form of competition. The decrease of nutrients in the medium, owing to competition between organisms with different growth rates may be an indirect cause of inhibition, as a result of involvement of the metabolism of the handicapped species.

Preliminary observations of coexistence of *S. brinkmannii* with *Trichoderma* spp. (BETTUCCI, 1983, 1985, 1987b) are suggestive of the lack of sensitivity of Basidiomycete with respect to diffusible metabolites in the medium. The high colonizing ability of buried woods, under laboratory conditions, may have been favoured by a «cascade» process analogous to that described by SMITH & al. (1981). Also to be added is the ability of *G. virens* and of several species of *Trichoderma* to produce volatile metabolites with an inhibiting effect upon the growth of other species (DENNIS & WEBSTER, 1971b).

It has been possible to observe a marked difference between the antagonistic activity of *G. virens* with species of *Trichoderma*, contrarily to remarks of DENNIS & WEBSTER (1971a).

#### ACKNOWLEDGEMENT

The authors would like to thank Dr. Gonzalo Pérez for the statistical analysis of data and his helpful criticism of this paper.

#### REFERENCES

- BETTUCCI L. y GUERRERO R., 1971 — Hongos xilófagos: estudio de cultivos. Universidad de la República, Facultad de Agronomía, Uruguay, Boletín n° 118 : 1-39.  
 BETTUCCI L., 1983 — Colonisation de bois d'*Abies religiosa*. Thèse Doct. Etat, Université

- de Nancy I, 182 p.
- BETTUCCI L., 1984 — Etude de la colonisation fongique d'éprouvettes de bois d'*Abies religiosa*. *Cryptogamie, Mycol.* 5 : 247-268.
- BETTUCCI L., 1985 — Communauté fongique du bois incubé dans trois sols volcaniques, sous conditions de laboratoire. *Cryptogamie, Mycol.* 6 : 43-64.
- BETTUCCI L., 1987a — Hongos xilófagos. Estudio de cultivos III. *Revista Fac. Humanid. Ci., Ser. Ci. Biol.* (In press).
- BETTUCCI L., 1987b — Variations saisonnières de l'activité colonisatrice de Basidiomycètes sur bois enterrés dans trois sols volcaniques. *Cryptogamie, Mycol.* 8 : 79-99.
- BRUCE A. and KING B., 1983 — Biological control of wood decay by *Lentinus lepideus* (Fr.) produced by *Scytalidium* and *Trichoderma* residues. *Material und Organismen* 18 : 171-181.
- BRUCE A., AUSTIN W.J. and KING B., 1984 — Control of growth of *Lentinus lepideus* by volatiles from *Trichoderma*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 82 : 423-428.
- CHET I., 1987 — *Trichoderma* - Application, mode of action, and potential as a biocontrol agent of soil borne plant pathogenic fungi. In : CHET I., *Innovative approaches to plant disease control*. New York, J. Wiley & Sons : 137-160.
- DENNIS C. and WEBSTER J., 1971a — Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. I - Production of non-volatile antibiotics. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 57 : 25-39.
- DENNIS C. and WEBSTER J., 1971b — Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. II - Production of volatile antibiotics. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 57 : 41-48.
- DICK C.M. and HUTCHINSON S.A., 1966 — Biological activity of volatile fungal metabolites. *Nature (London)* 211 : 868.
- HULME M.A. and SHIELDS J.K., 1970 — Biological control of decay fungi in wood by competition for non-structural carbohydrates. *Nature (London)* 227 : 300-301.
- HULME M.A. and SHIELDS J.K., 1972 — Interaction between fungi in wood blocks. *Canad. J. Bot.* 50 : 1421-1427.
- HUTCHINSON S.A. and COWAN M.E., 1972 — Identification and biological effects of volatile metabolites from culture of *Trichoderma harzianum*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 59 : 71-77.
- LUPO S. y SILVA S., 1987 — Efecto antagónico por metabolitos non volátiles entre especies lignofílicas y xilófagos. *Revista Fac. Humanid. Ci., Ser. Ci. Biol.* (In press).
- PIAGGIO M., 1987 — Hongos xilófagos : Estudio de cultivos II. *Revista Fac. Humanid. Ci., Ser. Ci. Biol.* (In press).
- RICARD J., 1977 — Experience with immunizing commensals. *Netherlands J. Plant Pathol.* 83 (suppl. 1) : 443-448.
- SCHEFFEE H., 1959 — *The analysis of variance*. New York, J. Wiley, 297 p.
- SILVA S. y LUPO S., 1987 — Estructura de las comunidades fúngicas : efecto de los metabolitos no volátiles. *Revista Fac. Humanid. Ci., Ser. Ci. Biol.* (In press).
- SMITH K.T., BLANCHARD R.O. and SHOTTLE W.C., 1981 — Postulated mechanism of biological control of decay fungi in red maple wounds treated with *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology* 71 : 496-498.
- WEBSTER J. and LOMAS N., 1964 — Does *Trichoderma viride* produce gliotoxin and viridin ? *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 47 : 535-540.



## ANALYSES BIBLIOGRAPHIQUES

PEGLER David N., 1986 — Agaric Flora of Sri Lanka. *Kew Bulletin*, Additional Series XII, 519 p.

Les 335 espèces de Basidiomycètes Agaricoïdes représentatives de la mycoflore de l'île de Ceylan sont ici remarquablement décrites, figurées, nommées, et délimitées.

Pour qui ouvre le livre dans sa seule partie descriptive sans avoir lu l'introduction et l'historique des recherches mycologiques dans ce territoire, il est difficile d'imaginer que, à l'exception de quelques récoltes faites par l'auteur soi-même lors d'une mission en 1974, toute la très minutieuse étude présentée ici repose exclusivement sur l'exploitation de matériel d'herbier. Il y a en effet, pas moins de 104 pages d'illustrations : dessins au trait, non seulement des spores, des principaux caractères anatomiques ou structuraux, mais aussi de carpophores entiers ou en coupe, que l'on croirait croqués sur le vif. En fait, ces dessins de carpophores ont été tracés à partir d'icônes, aquarelles principalement, qui accompagnent les récoltes faites à Ceylan, et dont certaines ont plus de cent ans d'âge.

L'activité mycologique dans cette île a connu une première période de 1844 à 1875 avec GARDNER, puis TWAITES en poste à Peradeniya, qui avec l'aide de récolteurs ont «approvisionné» BERKELEY en exsiccata (1200 récoltes) et en icônes (œuvre d'un artiste local); celles-ci, recopiées par une des filles de BERKELEY, accompagnent maintenant les collections déposées à Kew, les originaux ayant été retournés à Peradeniya. Sans laisser dans l'oubli le rôle ponctuel d'autres mycologues, CESATI et VON HOENEL entre autres, il faut accorder une mention spéciale à T. PETCH, en poste à Ceylan de 1905 à 1925 : non seulement il récolta alors beaucoup, mais encore il fut à même de réviser des espèces de BERKELEY et BROOME, et dans 27 publications, il décrit 79 nouvelles espèces.

Arrivons aux dernières décennies, et voici que D.N. PEGLER nous livre une impressionnante révision du travail antérieur sur la base de l'abondant matériel accumulé. Ce travail de dépoussiérage a conduit l'auteur à synonymiser de nombreuses espèces (et ce n'est pas pour surprendre !).

Les 335 retenues sont présentées dans leur cadre systématique de manière particulièrement claire, très pédagogique, puisque sont rappelés à chaque occasion les principaux caractères des grandes unités et sous-unités du système de classification adopté, et que des clés aiguillent l'utilisateur à tous les niveaux. En outre, pour chaque espèce, la précision nomenclaturale est impressionnante. . avec une liste de synonymes dépassant souvent la dizaine de noms (on retrouve aussi ces noms dans l'index précédés du signe †). Soulignons aussi que dans les deux «Appendices», le chercheur trouvera : en I, la liste des espèces récoltées par GARDNER avec leur N<sup>o</sup>, et désignées sous les noms utilisés dans la publi-

cation de BERKELEY 1847; en II, la liste des espèces récoltées par TWAITES avec leur N<sup>o</sup>, désignées sous les noms utilisés dans la publication de BERKELEY et BROOME 1870-73, et en regard, dans les deux cas, le résultat de la redétermination, et le N<sup>o</sup> afférant, de SACCARDO. Bref, un travail d'une très grande qualité.

Si l'on osait glisser quelques critiques mineures, on pourrait regretter que, dans les dessins d'hyphes ou de cystides, l'usage de pointillés en certaines zones fasse croire que l'on a pu délimiter parfaitement vacuole et cytoplasme, comme lors d'observations vitales; on aurait aussi aimé voir les boucles figurer plus souvent là où elles existent (cf. texte).

On ne peut que recommander cet ouvrage comme l'outil indispensable à tout mycologue intéressé par la mycoflore agaricoïde du Sri Lanka et/ou d'autres régions tropicales, pour comparaison.

Les éminentes qualités de l'œuvre sont très bien servies par la qualité de l'édition (c'est une tradition à Kew) : clarté de l'impression, de la mise en page, de la reproduction des dessins. Jusqu'à ce logo de couverture, où les silhouettes du *Clarkeinda trachodes* tiennent tout juste dans le contour de l'île : un clin d'œil aux futurs visiteurs ?

D. Lamoure

LES RÉSISTANCES GÉNÉTIQUES DANS LES SYSTÈMES DE PROTECTION  
DES CULTURES CÉRÉALIÈRES CONTRE LES CHAMPIGNONS, VIRUS  
ET NÉMATODES. Versailles (France) 23-24 Janvier 1986. Paris, INRA.  
*Les colloques de l'INRA n<sup>o</sup> 35.*

Ce symposium, organisé par les diverses instances scientifiques du domaine Agro-universitaire et présidé par un membre de l'Institut, met en relief le problème céréalier phytosanitaire en relation avec l'augmentation actuelle de rendements. Les nouveautés scientifiques concernent surtout les méthodologies adaptées à la sélection, les possibilités d'utilisation de la résistance, la nature de ces résistances pour les hôtes. Elles concernent aussi la biologie des agents pathogènes (la plus avancée) avec les facteurs et les paramètres qui modifient le comportement parasitaire nocif. Les exemples abondent : cas des parasites obligatoires (rouilles, oïdium, nématodes), cas des parasites nécrotrophes (septoriose, fusariose, rhynchosporiose, rhizoctone, piérin, helminthosporioses), virus. L'évolution des équilibres entre céréales cultivées et populations des pathogènes fongiques (ou autres) est due (entre autres) à l'utilisation continue de variétés résistantes d'hôtes et à la variabilité des parasites (surtout obligatoires), à la mode récente de la culture, à l'adaptabilité continue des agents pathogènes et à l'application de nouveaux produits pour la lutte chimique. L'amélioration de la stabilité des résistances génétiques dans la protection sanitaire des céréales est acquise grâce aux réalisations et orientations de la sélection, à la prise en compte des variabilités génétiques des populations-hôtes et des populations parasitaires par l'industrie phytosanitaire. Les expérimentations diverses sont analysées et les résultats sont donnés par groupes des agents pathogènes; don-

nous comme exemple les résultats d'expérimentations systématiques sur les maladies fongiques d'origine tellurique avec l'Essai «Rotations» d'Aulnay aux planches (Marne) et, deux cas en Picardie, ... L'avenir de l'agrochimie repose sur les stratégies de lutte contre la résistance des agents pathogènes, par la synthèse de nouveaux composés, par l'alternance et le mélange de matières actives, etc. La bibliographie spécialisée qui suit chaque article aide à élargir et à approfondir chaque sujet que l'auteur n'a pas pu développer plus, vu le temps strict donné pour chaque exposé. On peut conclure par une question. Vu les possibilités offertes par le génie génétique et la biologie moléculaire et cellulaire, sera-t-on capable d'identifier les composants chimiques qui apparaissent lors de l'infection, lors de l'extension du parasite, et d'identifier, puis de cloner les gènes qui gouvernent le contrôle de ces composants ? Il suffira alors d'introduire ces composants à la population que les agriculteurs d'une région «correspondante» cultiveront sous la pression agro-économique. On trouve enfin la nécessité absolue d'une collaboration stricte et renforcée entre biologistes, améliorateurs, physiologistes, chimistes, agronomes, phytopathologistes, et sélectionneurs.

Ch. Zambettakis

KENDRICK B., 1985 — The fifth kingdom. Waterloo, Ontario, Canada, Mycology Publications, 364 p.

En introduction, B. KENDRICK nous rappelle que le monde vivant peut être subdivisé en 5 règnes : les Procaryotes (*Monera*) et les Eucaryotes unicellulaires (*Protoctista*) auxquels sont rattachés les Eucaryotes phototrophes (*Plantae*), les Eucaryotes phagotrophes (*Animalia*) et les Eucaryotes absorbotrophes (*Fungi*). L'étude de ce cinquième règne — objet du présent ouvrage — est la version écrite d'un enseignement par correspondance assuré par l'auteur depuis plusieurs années.

Plus qu'une compilation bibliographique, il s'agit d'un ouvrage personnalisé, souvent au style direct, attrayant à la lecture. L'expérience et l'étendue des connaissances que détient B. KENDRICK dans le domaine de la Mycologie est partout sensible.

L'auteur a cherché à couvrir tous les aspects de la Mycologie : la classification tient 6 chapitres; la dispersion des spores, la physiologie, la génétique, l'écologie, la phytopathologie, les fongicides, les biodétériorations, la prédation, les symbioses, les mycorrhizes, l'alimentation, les mycotoxines et la mycologie médicale sont traités en chapitres successifs d'égale importance. Ceux-ci sont suivis de quelques références bibliographiques complémentaires à l'intention des lecteurs désireux d'approfondir leurs connaissances sur tel ou tel sujet. Les chapitres sont abondamment illustrés et l'auteur propose, en même temps que le texte écrit de cet enseignement, un support visuel sous forme de 600 transparents couleur (35 mm).

Ce livre est donc avant tout un ouvrage d'enseignement très complet dont la présentation claire et précise, en même temps qu'originale, ne manquera pas d'attirer beaucoup de lecteurs.

M.F. Roquebert



KREISEL H., Ed., 1987 — Pilzflora der Deutschen Demokratischen Republik. Basidiomycetes (Gallert-, Hut- und Bauchpilze). Jena, VEB Gustav Fischer Verlag, 281 p.

C'est à une équipe de mycologues réunis depuis 1977 autour de H. Kreisel que l'on doit cet inventaire annoté des Basidiomycètes (Hyménomycètes et Gastéromycètes) de la République Démocratique Allemande. Pour une telle réalisation qui a pris en compte les récoltes, parfois toutes récentes, de ce XXème siècle ainsi que d'autres plus anciennes — d'avant 1900 ou même 1800 —, de nombreuses collections privées et plusieurs herbiers nationaux ont été examinés. Les résultats de l'enquête, accompagnés de commentaires écologiques et chorologiques, sont donnés en une longue énumération alphabétique des genres et des espèces, constituant l'intérêt primordial de l'ouvrage.

Toutefois les pages introductives ont également leur importance et seront à lire attentivement: outre des généralités sur la flore fongique concernée, elles apportent en effet les indications nécessaires à la bonne utilisation du répertoire taxonomique où tout un système d'abréviations ■ été largement employé. Ainsi, sous une forme très concise et à propos de chaque espèce, on trouvera mention des noms d'auteurs, de l'appellation en allemand, des principaux synonymes, des références iconographiques les plus notables, de l'habitat et de la répartition en R.D.A. Afin de préciser cet aspect essentiel du travail, sont signalés les lieux et dates de cueillette des spécimens, avec les noms des récolteurs. Notes bibliographiques détaillées, liste de synonymies, index et mises à jour complètent par ailleurs cette étude.

Au point de vue nomenclatural, les Auteurs se sont bien évidemment attachés à suivre les principes édictés pour les champignons par le Code. Néanmoins, leur interprétation en ce qui concerne certains aspects de ce problème — citation des noms d'auteurs des taxons, «sanction» par Fries ou Persoon, notamment — diffère parfois de celle d'autres mycologues; on peut donc mesurer de nouveau l'importance des précisions qui restent à obtenir en cette matière. Par contre, les amateurs pourront se référer avec confiance à l'ouvrage pour connaître l'orthographe des mots et les accords en latin qui, tout botanique qu'il soit, obéit à des règles grammaticales.

Parmi les groupes de Basidiomycètes considérés, plus de 2500 espèces ont été recensées; elles appartiennent à un peuplement dont les caractéristiques ne surprennent guère dans la région étudiée. Constitué de plaines, d'un étage collinéen et d'une zone de moyennes montagnes où l'altitude ne dépasse pas 1250 m, soumis à un climat tempéré froid, ce territoire relève en effet du domaine floristique médio-européen subatlantique. Les groupements végétaux qu'on y rencontre, les divers biotopes, tous avec leurs cortèges respectifs de Macromycètes, sont semblables à ceux d'une grande partie de l'Europe. Le catalogue minutieux établi en R.D.A. participe ainsi fort utilement à la progression des recherches sur la distribution géographique des champignons dans l'hémisphère nord.

J. Perreau

VANKY K., 1987 — Illustrated Genera of Smut Fungi. JUGLICH W., Cryptogamic Studies Vol. 1. Stuttgart, New York, Gustav Fischer Verlag, 159 p.

Comme le souligne le Professeur NANNFELDT qui préface l'ouvrage, celui-ci est consacré essentiellement aux Ustilaginales phytopathogènes. Les champignons purement saprophytes s'apparentant à ces dernières par leur morphologie et par leur cycle sont laissés de côté. Seuls sont donc concernés les agents responsables des « charbons ».

Dans une brève introduction, l'auteur retrace les caractéristiques des Ustilaginales et aborde les problèmes que pose leur taxonomie. La séparation classique en deux familles, basée sur le mode de formation des sporidies, n'est pas retenue. La principale raison réside dans l'existence d'espèces possédant un mode de germination ne permettant de les placer ni dans les Ustilaginacées, ni dans les Tillétiacées. La difficulté de délimiter objectivement les genres est soulignée. Parmi les 80 genres qui ont été décrits, 47 seulement sont acceptés par l'auteur. Il propose pour ces derniers une clé de détermination, dans laquelle entre en première ligne la disposition des spores (spores isolées ou groupées de différentes façons).

L'essentiel de l'ouvrage est consacré à la description des genres ainsi déterminés, pris dans un ordre alphabétique. Sept autres sont également inclus (*Angiosorus*, *Crozalsiella*, *Endothlaspis*, *Ginanniella*, *Polysaccopsis*, *Tranzscheliella* et *Yenia*) bien que leur érection en tant que taxons distincts soit jugée insuffisamment fondée. Le genre *Kweilingia*, qui ne paraît pas appartenir aux Ustilaginales, figure également. Dans chaque cas, l'auteur reprend d'abord les caractéristiques du genre; il discute ensuite éventuellement de sa validité, de son affinité avec des genres voisins et de son étendue (nombre d'espèces, plantes hôtes), puis il décrit en détail l'espèce type. Des dessins originaux et des photographies personnelles, tout à fait remarquables, accompagnent le texte. Les symptômes observés au niveau des plantes ou des organes parasités par l'espèce type sont figurés, ainsi que, lorsque cela est nécessaire pour illustrer la description, une coupe à travers les sores et le mode de germination des spores. De plus celles-ci sont à chaque fois représentées en microscopie photonique et en scanning.

Le livre se termine par une abondante bibliographie, comportant plus de 400 références, d'où sont extraites deux listes distinctes récapitulant les publications d'intérêt général consacrées aux Ustilaginales et celles décrivant la flore de ces champignons dans différentes régions du globe. En outre, un index alphabétique signale les noms de genres et d'espèces cités dans le texte.

Ce premier volume de «Cryptogamic studies» représente un ouvrage de base qui devra figurer dans la bibliothèque de tout laboratoire de Mycologie ou de Phytopathologie. Aux non spécialistes des «charbons» il offre une vue d'ensemble facilement accessible des Ustilaginales. Il sera consulté avec profit par tous ceux qui seront confrontés à un problème concernant leur détermination ou leur nomenclature. Il constitue surtout un outil de travail de premier ordre pour les chercheurs désirant se consacrer à l'étude de ces champignons. Sa lecture stimulera sans doute les travaux destinés à approfondir leur phylogénie et à préciser leur classification qui paraît encore largement subjective.

A. Schneider

MOORE R. T., 1987 — Deuteromycete Studies. Collected Mycological Papers. Berlin, Stuttgart, J. Cramer, Gebrüder Borntraeger, *Bibliotheca Mycologica*, Band 108, 180 p.

Réunion de 18 articles publiés dans différentes revues par l'auteur entre 1953 et 1984, présentés sous trois rubriques :

1) les Helicosporae (5 articles) avec les Helicosporae du Centre-Nord des U.S.A., les nouvelles espèces d'Helicosporae (*Helicomycetes colligatus*, *Helicosporium linderi*, *Helicosporium panacheum*), le nouveau genre *Hiospira* et l'index des Helicosporae (1 article + 1 addenda).

2) les champignons marins (4 articles) avec les Thalassiomycètes : le nouveau genre *Nia*, 3 nouveaux genres *Cirrenalia*, *Gremasteria*, *Culcitalna* et une nouvelle espèce *Humicola alopallonella*, l'étude du genre *Zalerion* et propositions pour la classification des levures marines et autres champignons levuriformes (y compris les charbons).

3) divers : *Sporidesmium*, *Scheleobrachea*, *Berkleasium*, *Piricauda*, *Stilbum zacalloxanthum*, *Antromycopsis broussonetiae* et autres *Antromycopsis*, *Vanrija*.



Commission paritaire n° 58611

Dépôt légal n° 13905 - Imprimerie de Montligeon

Sortie des presses le 20 juin 1988

Imprimé en France

Éditeur : A.D.A.C. (Association des Amis des Cryptogames)

Président : A. Couté; Secrétaire : D. Lamy

Trésorier : R. Baudouin; Directeur de la publication : H. Causse

## CRYPTOGAMIE – MYCOLOGIE

### BUREAU DE RÉDACTION

- MM. DURRIEU G., pour les articles traitant d'Écologie et de **Phytopathologie**  
Laboratoire de Botanique, Faculté des Sciences,  
Allées Jules Guesde, 31 000 Toulouse (France).
- JOLY P., pour les articles traitant de **Systématique**  
Laboratoire de Cryptogamie, Muséum National d'Histoire Naturelle  
12, rue de Buffon, 75005 Paris (France).
- MANACHERE G., pour les articles traitant de **Physiologie**  
Laboratoire de Mycologie, Université de Lyon I,  
43, Bd du 11 Novembre 1918, 69622 Villeurbanne Cedex (France).
- Mmes ZICKLER D., pour les articles traitant de **Cytologie**  
Laboratoire de Génétique, Université de Paris Sud,  
Bât. 400, Centre d'Orsay, 91405 Orsay (France).
- ROQUEBERT M. F., s'occupera des autres spécialités.  
Laboratoire de Cryptogamie, Muséum National d'Histoire Naturelle  
12, rue Buffon, 75005 Paris (France).

### COMITÉ DE LECTURE

- |  |                                    |
|--|------------------------------------|
| BOIDIN J., Lyon (France)                     | MONTANT Ch., Toulouse (France)     |
| CHEVAUGEON J., Orsay (France)                | MOREAU Cl., Brest (France)         |
| GAMS W., Baarn (Hollande)                    | PEGLER D.N., Kew (Grande-Bretagne) |
| HENNEBERT G., Louvain-la-Neuve<br>(Belgique) | SUTTON B., Kew (Grande-Bretagne)   |
| LACOSTE L., Paris (France)                   | TURIAN G., Genève (Suisse)         |

Les manuscrits doivent être adressés (en 3 exemplaires) directement à un membre du Bureau de Rédaction, choisi pour sa spécialité. Chaque membre du Bureau se charge d'envoyer l'article à 2 membres du Comité de Lecture (ou autres lecteurs compétants).

Bien qu'étant avant tout une revue de langue française, les articles rédigés en Anglais, Allemand et Espagnol sont acceptés.

Les recommandations aux auteurs sont publiées dans le 1<sup>er</sup> fascicule de chaque tome.



